Министерство образования и науки Российской Федерации
Дальневосточный государственный университет
Научно-образовательный центр фундаментальных исследований морской биоты
Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН

Ю.А. Каретин, А.А. Анисимова, А.П. Анисимов

Биология клетки с основами эмбриологии и гистологии



Владивосток
2009

Министерство образования и науки Российской Федерации
Дальневосточный государственный университет
Научно-образовательный центр фундаментальных исследований морской биоты
Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН

А.А. Анисимова, Ю.А. Каретин, А.П. Анисимов

БИОЛОГИЯ КЛЕТКИ
С ОСНОВАМИ ЭМБРИОЛОГИИ И ГИСТОЛОГИИ

Учебное пособие

Владивосток
Издательство Дальневосточного университета
2009

УДК 576.3/591.3/591.8
ББК 28.05
А 67

Рецензенты:
В.В. Исаева, главный научный сотрудник Института биологии моря ДВО РАН, доктор биологических наук, профессор;
И.И. Пущин, научный сотрудник Института биологии моря ДВО РАН, кандидат биологических наук

Анисимова А.А., Каретин Ю.А., Анисимов А.П.
А 67 **Биология клетки с основами эмбриологии и гистологии:** учебное пособие. — Владивосток: Изд-во Дальневост. ун-та, 2009. - 220 с.
Ил. 144, табл. 3, библ. 10.

ISBN 978-5-7444-2283-5

В настоящем пособии излагаются основные закономерности строения и функционирования клеток, механизмы их воспроизведения и специализации, а также даются общие представления об онтогенезе и тканевой организации многоклеточных животных. Краткий экскурс в сложный мир клеточной биологии позволит читателю уяснить главные закономерности проявления жизни на уровне отдельных клеток и их ансамблей.

Учебное пособие предназначено для студентов биологических и смежных (экология, биохимия) направлений и специальностей. Пособие также может быть рекомендовано студентам-медикам, психологам, химикам, физикам при изучении ими общебиологических дисциплин, а также учителям биологи, школьникам-старшеклассникам и абитуриентам.

А $\frac{200102000}{180\ (03)\text{-}2009}$ ББК 28.05

ISBN 978-5-7444-2283-5

Введение

Биология клетки, **клеточная биология** (англ. *cell biology*) – раздел биологии, изучающий все проявления жизнедеятельности клеток – их строение, функционирование, размножение, развитие, процессы клеточного старения и смерти. До середины XX века наукой, непосредственно занимающейся изучением клетки, была *цитология* (греч. *kytos* – клетка). Её можно назвать наукой о морфологии и физиологии клетки. Соответственно, основным методическим подходом к изучению клеточной организации был визуальный микроскопический анализ тонкого строения клетки и ее органоидов, включая качественную и количественную оценку ее содержимого. Сегодня же для понимания основ клеточной жизнедеятельности необходимо знание биохимических, молекулярных, биофизических и генетических процессов, что требует привлечения методик не одной, а сразу нескольких наук. К примеру, развитие какой-либо клеточной патологии сначала может быть описано цитологическими методами; затем биохимическим путем можно выделить белок, отвечающий за данное заболевание; генетики, в свою очередь, определяют соответствующий ген (участок ДНК, несущий информацию о строении белка), а молекулярные биологии находят конкретные пути внутриклеточного метаболизма, в которых этот белок участвует. Поэтому различные биологические науки, объектом исследования которых является клетка, сегодня объединились под общим названием «*биология клетки»*, став подразделами этой комплексной дисциплины.

Понимание основ клеточной биологии необходимо для освоения наук, изучающих биологические системы более высокого, по сравнению с клеткой, порядка – *гистологии* и *биологии индивидуального развития*. Предметом изучения гистологии являются *ткани* многоклеточных животных – системы, состоящие из большого количества клеток и межклеточного вещества, объединенных общностью строения и выполняемых в организме функций. Интенсивное развитие гистологии началось после открытия клетки и появления *клеточной теории*, установившей единство организации и происхождениях всех живых существ и составляющих их клеток. Биология развития изучает закономерности и движущие силы *онтогенеза* – индивидуального развития организмов, начиная с момента образования *зиготы* (одноклеточного зародыша) и заканчивая физиологической смертью. Раздел биологии развития, посвященный изучению *эмбрионального*, или *зародышевого*, *развития* особи, называется *эмбриологией*. Основной задачей эмбриологии и биологии развития в целом до сих пор остается решение вопроса: каким образом из одной единственной клетки возникает сложнейшая система из миллиардов клеток двухсот различных типов, которую представляет собой взрослый многоклеточный организм? Таким образом, появление эмбриологии как самостоятельной науки также было сопряжено с открытием клеток (в первую очередь, *сперматозоидов* и *яйцеклеток*), а ее дальнейшее развитие – с изучением механизмов клеточной *репродукции* (размножения) и *дифференцировки* (специализации).

Целью данного пособия является ознакомление студента с основами биологии клетки и сопряженных наук – гистологии и эмбриологии. В нем отражены лишь базовые, ключевые моменты, необходимые для понимания сущности жизни и основных принципов организации и развития многоклеточных животных. Для более детального изучения этих дисциплин существует достаточно много специальной учебной литературы, список которой указан в конце пособия.

Тема 1. Клетка как элементарная живая система

1.1. Уровни организации живой материи

Для того, чтобы понять место биологии клетки среди других наук, рассмотрим положение клетки в иерархии *уровней организации живой материи*.

Все объекты мира являются системами, т.е. состоят из элементов, взаимосвязанных между собой определенными отношениями. Простые системы объединяются в системы более высокого порядка, и, таким образом, организация материи поэтапно усложняется. Можно выделить несколько уровней организации материи, входящей в состав живого. Изобразим этот процесс усложнения материи в виде некой иерархической лестницы:

атомы → молекулы → надмолекулярные комплексы → органоиды → ***клетки*** *→ ткани →*

органы → организмы → популяции → экосистемы → биосфера.

В этой иерархической лестнице клетка занимает особое место – она является элементарной единицей, которая обладает всеми свойствами, отличающими живые объекты от неживых. Что же такое живое? Определение М.В. Волькенштейна гласит: «Живые организмы представляют собой открытые (т.е. обменивающиеся с окружающей средой веществом и энергией), саморегулирующиеся и самовоспроизводящиеся системы, важнейшими функционирующими веществами которых являются белки и нуклеиновые кислоты». Таким образом, живому свойствен ряд признаков: способность к поглощению извне вещества и энергии, а также их трансформация и использование для самоподдержания своей структуры (***обмен веществ и энергии***), способность к самовоспроизведению и росту (***размножение***), способность воспринимать внешнюю информацию (***раздражимость***) и адекватно реагировать на нее (***реактивность***), способность приспосабливаться к меняющимся условиям среды и эволюционировать (***адаптивная эволюция***). Вся совокупность этих отдельных свойств дает качественно новое, или *эмерджентное*, свойство, именуемое жизнью. Таким образом, живыми мы можем называть только те объекты, которые обладают всем комплексом перечисленных свойств одновременно. Наименьшей единицей, отвечающей этому требованию, и является клетка. Таким уровням организации материи, как молекулы (в частности, гены), надмолекулярные комплексы (в частности, вирусы) и даже целые клеточные органоиды, ещё нельзя приписать свойство полноценной жизни, они могут отвечать лишь за отдельные ее проявления. Возникновение настоящей жизни возможно лишь при достижении некоего критического, порогового уровня сложности системы. Таким порогом является *клеточный уровень организации материи*. Таким образом, биология клетки изучает все проявления жизни на самом простом, элементарном уровне ее организации – на клеточном уровне.

1.2. Клетка как открытая материальная система

Природа материальна. Существуют две основные формы материи – *вещество* и *поле* (энергия). Наиболее распространённая во Вселенной форма вещества имеет атомарное строение, т.е. состоит из *атомов*, классификация которых приведена в периодической таблице Менделеева. Атомы способны объединятся друг с другом, образуя структуры следующего уровня сложности – *молекулы*. Напомним, что хотя молекулы состоят из атомов, они (молекулы) выступают как некое качественно новое целое, проявляющее эмерджентные свойства, т.е. свойства, качественно отличные от свойств отдельных атомов. Свойства молекулы зависят как от её состава, так и от структуры связей, особенностей взаимодействия атомов внутри молекулы.

Всё разнообразие существующих молекул можно разделить на два класса – *органические* и *неорганические*. *Неорганические молекулы* – сравнительно простые соединения, которые могут включать все элементы таблицы Менделеева в разных сочетаниях. *Органические молекулы* – это молекулы разной степени сложности, построенные

на основе более или менее разветвленного углеродного скелета (цепочка атомов углерода с присоединенными к ней различными боковыми атомами, чаще всего атомами водорода и кислорода). Простые органические молекулы встречаются повсеместно и в неживой природе (например, природный газ метан – CH_4), они найдены даже в космическом пространстве. Живые клетки синтезируют очень крупные органические молекулы – *макромолекулы*, сложность которых не идёт ни в какое сравнение со сложностью органики, встречающейся в неживой природе.

Основными химическими элементами, входящими в состав биологически значимых органических макромолекул, являются углерод, водород, кислород и азот. Причина того, что эти четыре элемента так идеально подходят к выполнению биологических функций, заключается в том, что все они легко образуют ковалентные связи посредством спаривания электронов. Для того чтобы полностью укомплектовать свои внешние электронные оболочки и образовать стабильные ковалентные связи, кислороду требуется два электрона, азоту – три, углероду – четыре, а водород легко отдает им свой единственный электрон. Кроме того, кислород, азот и углерод образуют и одинарные, и двойные связи, благодаря чему могут формировать самые разнообразные химические соединения. Наконец, среди элементов, образующих ковалентные связи, они самые легкие, а прочность ковалентной связи, как известно, обратно пропорциональна атомным весам взаимодействующих атомов. Видимо, все указанные причины и определили тот факт, что живые организмы «выбрали» именно эти элементы для построения основы своего тела. Наряду с этими *базовыми* элементами, жизненно необходимыми являются и так называемые *макроэлементы* (фосфор, сера, натрий, калий, магний, кальций, хлор), присутствующие в организмах в достаточно высоких концентрациях, а также *микроэлементы* (железо, медь, цинк, марганец, хром, селен, молибден, йод, кобальт, и др.), встречающиеся в следовых количествах. Более 99% общей массы клетки приходится на долю шести химических элементов – C, H, N, O, P, S.

Любая материя существует в движении. Под движением материи подразумевается в первую очередь ее непрерывное изменение, развитие, постоянный переход вещества в поле и обратно. Движение материи описывается физиками с помощью *II-го начала (закона) термодинамики*. Согласно этому закону, *энтропия* (мера хаоса) мира стремится к максимуму. Считается, что после Большого Взрыва, в результате которого образовалась наша Вселенная, вся материя существует в *неравновесном состоянии*, т.е. в виде сгустков вещества и энергии и разреженных пространств. Другими словами, материя имеет некую структуру, обусловленную в первую очередь химическими связями между атомами. Как известно, любая химическая связь заключает в себе запас энергии, поэтому поддержание структурированного состояния материи требует определенных энергетических затрат. Отсюда следует важнейшее обобщение термодинамики – **любая структурированная материя *самопроизвольно*** (т.е. без внешних энергетических затрат) **стремится перейти в диффузное (равновесное) состояние**. Это означает, что любая крупная молекула стремится распасться на более простые вещества, при этом энергия разорванных химических связей рассеивается в пространстве. Таким образом, распад вещества всегда сопровождается выделением энергии (рис. 1, правая часть схемы). Однако, в открытых системах, т.е. в системах, способных поглощать вещество и энергию и обмениваться ими с внешней средой, наблюдается и обратный процесс – процесс усложнения материи. Мы видим, что в ходе эволюции Вселенной появляются всё более сложные, тонко устроенные системы: звёздные системы и галактики, сложные атомы и молекулы, в том числе органические вещества, живые создания, разум. Другими словами, материя способна к *самоорганизации*, но этот процесс сопровождается поглощением внешней энергии. При этом общий уровень энтропии во Вселенной продолжает возрастать, но локально, в благоприятных условиях материя способна усложняться с поддержанием постоянного уровня энтропии или даже с его уменьшением. Особенно ярко это свойство выражено в живых системах. Живая материя способна какое-то время (пока она действительно жива) противостоять процессу необратимого распада. Это возможно благодаря тому, что живые системы используют

внешние потоки вещества и энергии для синтеза сложных молекул из более простого вещества, т.е. для поддержания своей организации – сложной, высокоупорядоченной и, соответственно, низкоэнтропийной (рис. 1). Они способны не только поддерживать на протяжении всего своего существования постоянный уровень энтропии, но и даже снижать его – путем повышения своей сложности и упорядоченности в процессе эволюции. Но если прекращается поток вещества и энергии, живая система не может поддерживать своё существование, и наступает смерть. После этого система ведёт себя как всякое неспособное к самоорганизации образование: происходит быстрая дезорганизация, сопровождающаяся рассеиванием вещества и заключенной в нём энергии в окружающее пространство.

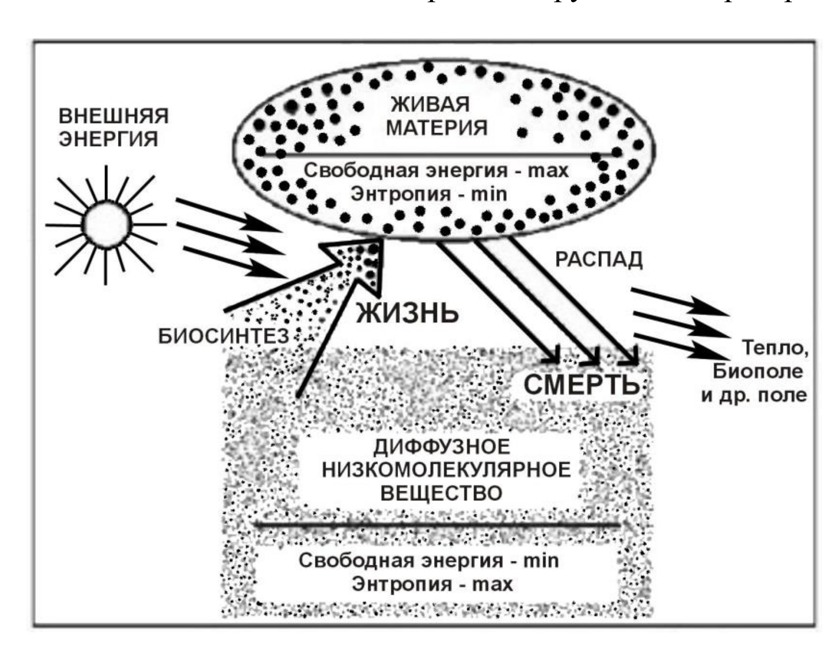


Рис. 1. Приложение II-го начала термодинамики к живым системам: круговорот вещества и энергии как фундаментальное свойство жизни (по: Анисимов, 2008).

Живая клетка способна противостоять необратимому распаду, осуществляя синтез сложных макромолекул из более простых веществ**, а также накопление и направленное использование получаемой извне энергии.** Эти процессы взаимосвязаны. Синтез веществ, как и всякая созидательная деятельность, всегда сопровождается поглощением энергии, которая трансформируется в энергию химических связей синтезируемого вещества. Таким образом, любая живая клетка способна улавливать внешнюю энергию и переводить ее в энергию химических связей макромолекул. В процессе жизнедеятельности какие-то вещества распадаются с выделением энергии, а какие-то вновь синтезируются с поглощением энергии. Таким образом, клетка способна сама осуществлять круговорот вещества и энергии, а это – первое фундаментальное свойство жизни. Когда круговорот прекращается, наступает смерть.

Круговорот (обмен) веществ и энергии в живых организмах называют *метаболизмом*. В результате метаболизма непрерывно образуются, обновляются и разрушаются клеточные структуры, синтезируются и разрушаются различные химические соединения. В клетке динамически уравновешены два направления метаболизма: *анаболизм* – биосинтез органических веществ, в том числе макромолекул, и *катаболизм* – расщепление сложных молекул до более простых. В зависимости от направления химических процессов и их результата различают также *пластический* и *энергетический* типы метаболизма.

Пластический метаболизм **– это совокупность химических реакций, направленных на построение тела организма.** В основе этих реакций лежит биосинтез веществ (анаболизм), но ему может предшествовать частичный распад чужеродных (пищевых) органических веществ. Пластический метаболизм, в частности, его синтетические реакции, идет с поглощением энергии.

Энергетический метаболизм **– это совокупность реакций, направленных на запасание энергии**, необходимой для осуществления всех видов работ, в том числе, для нужд пластического метаболизма. Энергия запасается путем синтеза особых энергоемких молекул *аденозинтрифосфорной кислоты* (*АТФ*). В основе реакций синтеза АТФ всегда лежит захват внешней энергии; в большинстве случаев это либо энергия солнечного света, либо энергия химических связей, высвобождаемая в ходе глубокого распада (катаболизма) органических веществ, полученных с пищей.

Пластический метаболизм направлен, в основном, на синтез макромолекул. В составе живой материи присутствуют **4 класса макромолекул –** *липиды (жиры)*, *углеводы*, *белки* и *нуклеиновые кислоты*. Биологические макромолекулы в основном представляют собой *полимеры* – сложные многозвеньевые молекулярные конструкции, цепочки, состоящие из однородных повторяющихся звеньев – *мономеров*.

(1) Липиды, или жиры – органические макромолекулы, состоящие из спирта глицерина (или ему подобных спиртов) и остатков жирных кислот. На рис. 2 приведено строение молекулы фосфолипида – характерного представителя клеточных липидов. Липиды представляют собой полярные молекулы: они имеют головку (спирт) и хвосты (жирные кислоты). Головка липида *гидрофильна*, поскольку молекула спирта и присоединенный к ней остаток фосфорной кислоты имеют электрический заряд и, соответственно, притягивают к себе заряженные диполи воды; хвосты, напротив, *гидрофобны,* так как содержат незаряженные (и поэтому отталкивающие воду) углеводородные цепочки жирных кислот. Такое строение обуславливает особое поведение липидов в водной среде: они агрегируют с образованием *мицелл* или сдвоенных (билипидных) пластов – *мембран*. Мембраны не представляют собой плоские слои, они всегда замкнуты сами на себя в виде вакуолей, плоских или трубчатых цистерн, а также сплошной наружной оболочки клетки – *плазмалеммы*. При этом липиды самоорганизуются таким образом, чтобы с водой соприкасались только гидрофильные головки, а гидрофобные хвостики были закрыты от воды головками (рис. 3, 4).

Липиды выполняют в клетке две основные функции. Во-первых, это ***структурная функция***, так как липиды составляют основу клеточных мембран. Во-вторых, ***энергетическая функция*** – липиды расщепляются с образованием большого количества энергии. Впрочем, липиды используются как источник энергии лишь при недостатке углеводов, так как расщепление молекулы липида само по себе изначально требует бóльших энергозатрат, чем расщепление молекулы углевода. Поэтому, несмотря на то, что липиды несут в своих химических связях больший, по сравнению с углеводами, энергопотенциал, он менее доступен и потому вторичен.

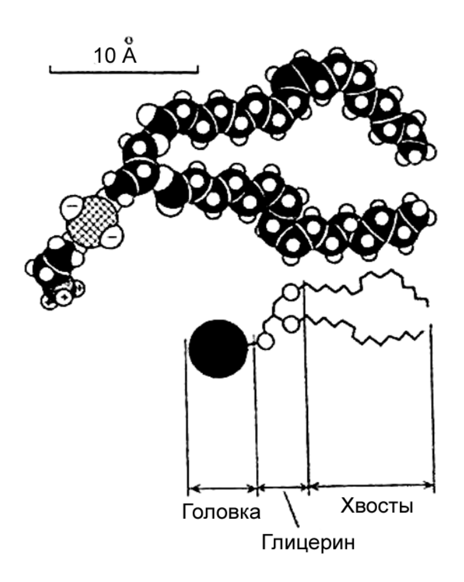


Рис. 2. Схема строения молекулы фосфолипида – характерного представителя липидов клетки (по: Ченцов, 2004).

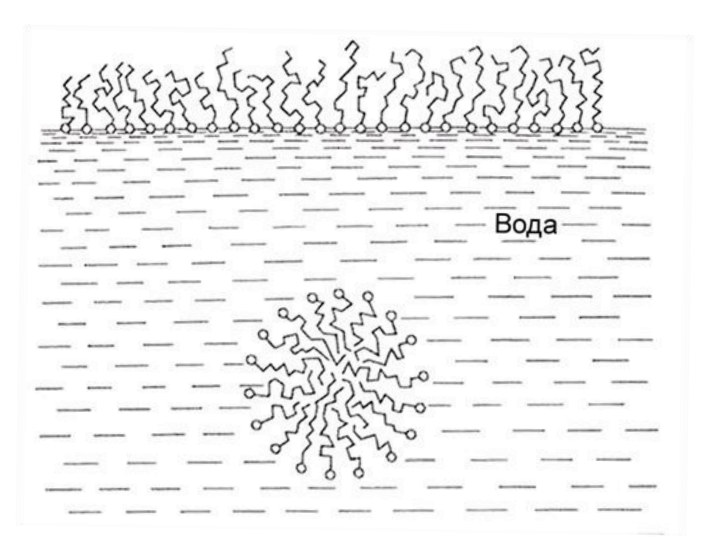


Рис. 3. Мономолекулярный слой липидов на поверхности воды и липидная мицелла в воде (по: Ченцов, 2004).

Рис. 4. Липосома (показана ее половинка) – замкнутый билипидный слой в виде вакуоли (по: Ченцов, 2004).

(2) Углеводы – это органические молекулы разной степени сложности, их мономеры состоят из углеродного скелета, как правило, замкнутого в кольцо, и присоединенных к нему в разных положениях остатков молекул воды (–Н и –ОН). Различают простые углеводы – *моносахариды*, и сложные – *ди*-, *олиго*- и *полисахариды* (рис. 5).

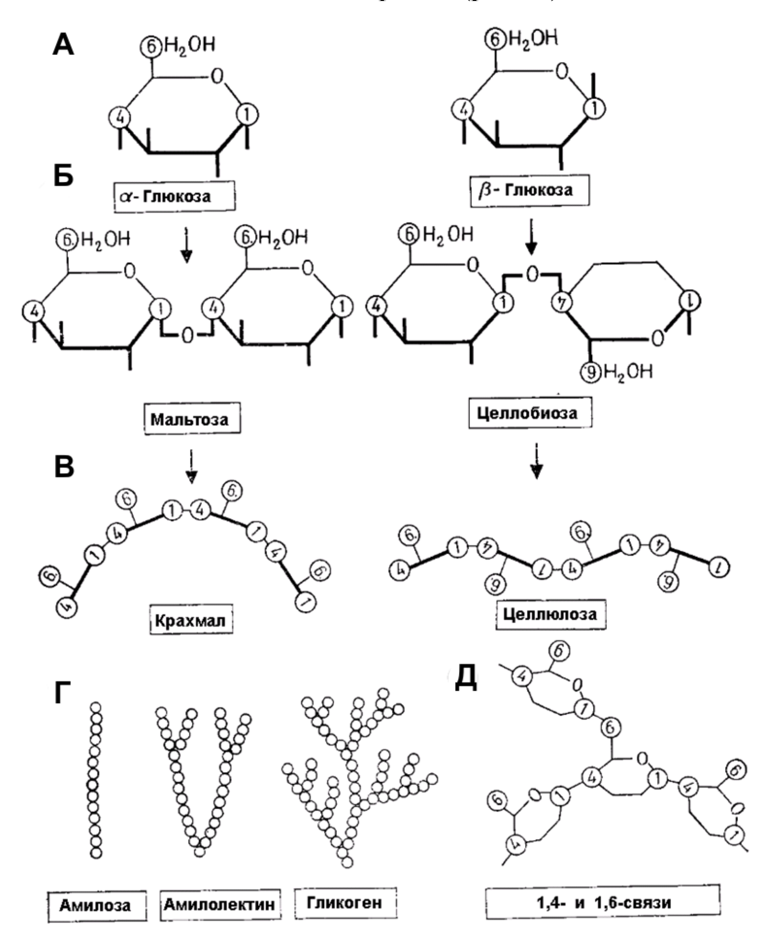


Рис. 5. Углеводы. А – моносахариды (для каждого остатка глюкозы обозначена только ось молекулы и положение группы CH_2OH (С-6), вертикальные штрихи – гидроксильные группы), Б – дисахариды, В – полисахариды, Г – модели молекул различных видов полисахаридов (глюкозные остатки обозначены кружками), Д – места разветвления в молекуле гликогена или амилопектина. *Стрелками* обозначен процесс полимеризации углеводов (по: Либберт (ред.), 1982).

(3) Белки и пептиды – это полимерные молекулы, мономерами которых являются *аминокислоты*. Молекула аминокислоты содержит *аминогруппу* (–NH_2), *карбоксильную группу* (–COOH) и *радикал* (условно обозначаемый R). Существует 20 разновидностей аминокислот, различающихся своими радикалами (рис. 6). Аминокислоты способны полимеризоваться благодаря образованию между ними *пептидной связи*. При этом аминогруппа одной аминокислоты связывается с карбоксильной группой другой аминокислоты, в результате чего в качестве побочного продукта образуется молекула воды (аминогруппа и карбоксильная группа теряют при связывании друг с другом –H и –OH соответственно). Образовавшаяся группа атомов CO—NH называется *пептидной группой*, а прочная ковалентная связь между атомами углерода и азота – *пептидной связью*. Таким образом, полипептидная цепочка состоит не из целых аминокислот, а из аминокислотных остатков (рис. 7).

Gly Ala Ser Cys Val

Phe

Lys Arg Glu Gln Pro

Рис. 6. Аминокислоты. Вверху – общая формула (с различным написанием карбоксильной группы). Ниже – 11 из 20 встречающихся в составе белков аминокислот: глицин, аланин, серин, цистеин, валин, лизин, аргинин, глутаминовая кислота, глутамин, фенилаланин, пролин (по: Либберт (ред.), 1982).

Рис. 7. Пептиды. Формальная схема синтеза дипептида (В) в результате образования пептидной связи между двумя аминокислотами (А и Б). Г – отрезок пептидной цепи (по: Либберт (ред.), 1982).

В общем случае соединения из аминокислот называют *пептидами*. Различают *дипептиды* (2 аминокислотных остатка), *олигопептиды* (до 10 аминокислотных остатков) и *полипептиды* (более 10 аминокислотных остатков в цепочке). Крупные полипептиды содержат 100 – 300 – 500 и более аминокислотных остатков. Такие крупные полипептиды и называют *белками*.

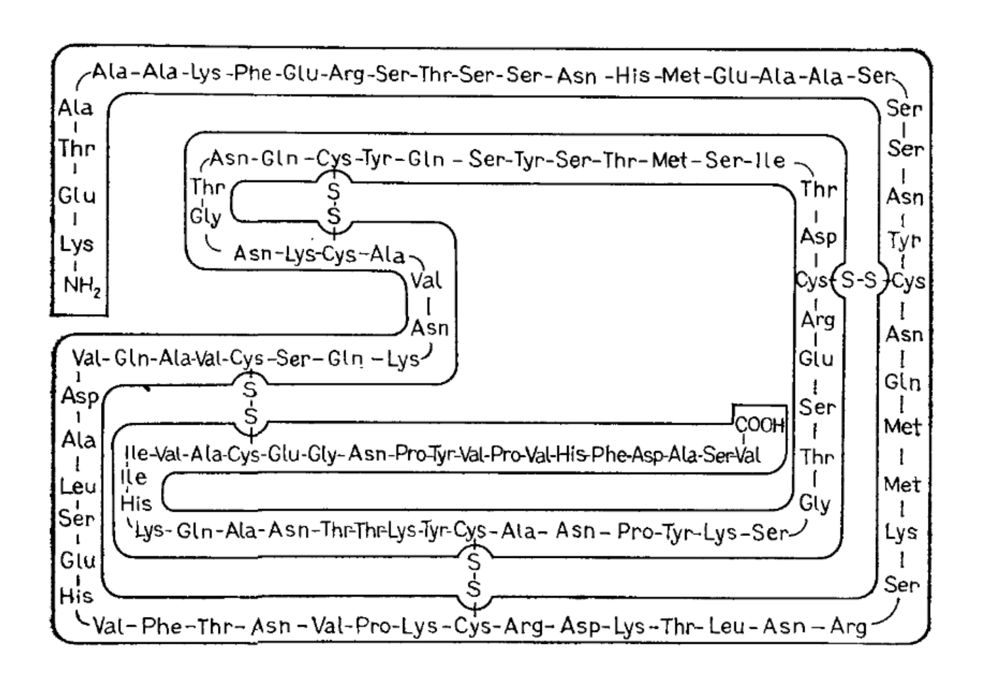


Рис. 8. Первичная и третичная структура белка-фермента рибонуклеазы. Использованы международные 3-буквенные обозначения аминокислот; это обычно три первые буквы названия аминокислоты (по: Либберт (ред.), 1982).

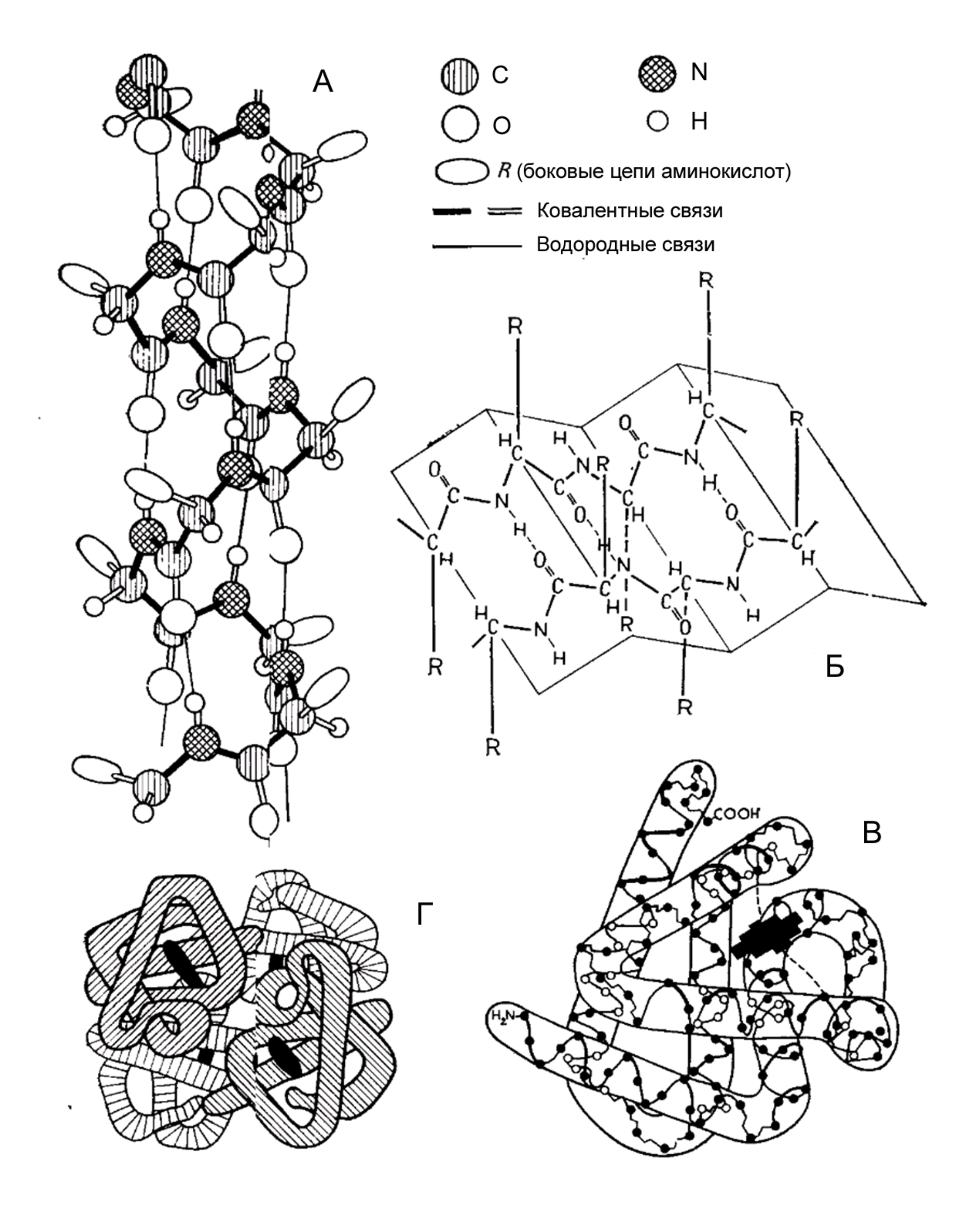


Рис. 9. Конформация белка. А – альфа-спираль, Б – складчатая структура, В – третичная структура миоглобина (указана также вторичная структура со спиральными и не спиральными участками: чёрные кружочки – аминокислотные остатки; светлые – аминокислотные остатки на втором плане; простетическая группа зачернена), Г – четвертичная структура гемоглобина: 4 пептидные цепи и 4 простетические группы (зачернены) (по: Либберт (ред.), 1982).

Как уже говорилось, в состав белков входит 20 видов *аминокислот*. Аминокислотные остатки чередуются в уникальном для каждого белка порядке, поэтому белки являются *нерегулярными полимерами.* В конечном счете, аминокислотный состав определяет уникальную пространственную структуру белка (рис. 8 и 9). Линейную последовательность аминокислот в молекуле белка называют *первичной структурой* белка (рис. 8). Благодаря образованию *водородных связей* (см. курс общей химии) между частично положительно заряженными атомами водорода и частично отрицательно заряженными атомами кислорода в соседних пептидных группах, линейная молекула закручивается в спираль или собирается

в складки, формируя *вторичную структуру* белка (рис. 9, А, Б). В водной среде спиральные и не спиральные участки полипептидной цепи складываются в трёхмерное образование – рождается уникальная *третичная структура* белка (рис. 9, В). Третичная структура стабилизируется *дисульфидными связями* (S-S-мостиками), возникающими между атомами серы в радикалах серосодержащих аминокислот (рис. 8), *электростатическими связями* между разноименно заряженными аминокислотами, а также *гидрофобными взаимодействиями*, при которых неполярные (гидрофобные) части молекулы стремятся «спрятаться» внутрь глобулы. Для некоторых белков характерна *четвертичная структура* (рис. 9, Г): одинаковые или различные полипептидные цепи, называемые в данном случае *протомерами*, объединяются в одно целое – *олигомер*, который фиксируется нековалентными (ионными и водородными) связями между боковыми цепями полипептидов, а также гидрофобными взаимодействиями. Часто в составе молекул белка присутствуют атомы металлов, формирующие так называемые *простетические группы*. Например, молекула гемоглобина состоит из четырех полипептидных цепей, и в каждой из них имеется простетическая группа с атомом железа.

Следует понимать, что **пространственная организация молекулы белка** в первую очередь **определяется уникальностью его первичной структуры, т.е. последовательностью аминокислот**! Благодаря существованию в виде уникальной трехмерной конфигурации, а также способности обратимо изменять ее в зависимости от условий среды (*обратимая денатурация*) белки выполняют в клетке почти все важнейшие функции. Перечислим их:

Структурная (скелетная) функция. Белки обеспечивают опору клеток, тканей, организмов. Так, многочисленные фибриллярные (нитчатые) белки цитоскелета обеспечивают поддержание формы животной клетки; фибриллярный белок *коллаген*, входящий в состав всех соединительных тканей организма, обеспечивает плотность и упругость дермы кожи, прочность хрящей и костей и т.д.

Двигательная функция. К опорным (скелетным) белковым структурам клеток могут прикрепляться особые сократительные (двигательные) белки, образуя единые опорно-двигательные конструкции. К таким конструкциям относятся, например, миофибриллы мышечных клеток или осевые комплексы жгутиков и ресничек. Сокращение двигательных белков, которое сводится к обратимой денатурации их третичной структуры (*конформации*), приводит в движение скелетные блоки и вызывает сокращение целых клеток и клеточных ансамблей.

Ферментативная функция. Это одна из важнейших функций белков. Ферменты (катализаторы) ускоряют протекание в нужном направлении химических реакций в клетке в миллионы раз. Клетка – наисложнейшая химическая «лаборатория», в которой протекают тысячи химических реакций. Всякое проявление жизнедеятельности клетки можно описать языком происходящих в ней химических превращений. И большинство этих реакций инициируется белками-ферментами. Ферменты – очень обширная и разнообразная группа белков. По большому счету, можно выделить *ферменты синтеза* (например, ДНК-полимераза, осуществляющая реакцию матричного синтеза цепи ДНК из свободных нуклеотидов, см. далее) и *ферменты расщепления* (например, пищеварительные ферменты, расщепляющие сложные полимеры, получаемые с пищей, до мономеров). В основе ферментативной функции лежит механизм стереохимического узнавания ферментом «своего» строго определенного субстрата (по принципу «ключ – замок»). Для этого фермент должен обладать высокоспецифичной, уникальной третичной структурой, подходящей к структуре субстрата и способностью к обратимой денатурации. В рабочем цикле фермент подобно пружине «сжимается» и «разжимается», сближая или удаляя друг от друга молекулы субстрата, участвующие в реакции.

Транспортная функция. При транспорте веществ из окружающей среды в клетку и обратно, а также между клетками внутри многоклеточного организма, используется свойство специальных транспортных белков непрочно, обратимо связываться с субстратом для его

переноса. Так, белок гемоглобин, участвующий в переносе газов между тканями, способен поочередно связывать кислород и углекислый газ с помощью атомов железа, входящих в состав его простетических групп (см. выше). Особая трехмерная конфигурация четырех полипептидных цепей гемоглобина не позволяет железу слишком прочно связываться с молекулами кислорода, предотвращая его окисление. Избирательное сродство железа к кислороду или углекислому газу также зависит от пространственной конформации белковых цепей, которая постоянно изменяется за счет обратимой денатурации. Белки участвуют и в переносе веществ через липидные мембраны клетки: они формируют специальные белковые каналы, которые «открываются» и «закрываются» – меняют свою третичную структуру таким образом, что внутри молекулы то появляется, то исчезает молекулярная полость, способная пропустить сквозь канал транспортируемые вещества. Понятно, что для успешного распознавания переносимых веществ белок-канал, как и в случае с ферментами, должен обладать уникальной третичной структурой.

Рецепторная функция. Белки являются основным компонентом *рецепторов* клетки – особых молекулярных структур, воспринимающих и передающих внутрь клетки сигналы из внешней среды. Как правило, рецепторная молекула представляет собой не просто белок, а *гликопротеид* – молекулу, имеющую белковую и углеводную компоненты. Под действием определенного фактора физической или химической природы белковая часть рецептора «возбуждается» – претерпевает кратковременную обратимую денатурацию, за счет чего сигнал передается дальше.

Сигнальная (информационная) функция. Белки также используются клетками как информационные молекулы, регулирующие адекватное поведение клеток в условиях многоклеточности, их размножение и развитие в правильном направлении. Часто хватает нескольких информационных молекул, чтобы необратимо изменить судьбу клетки. Огромное значение сигнальная функция приобретает в эмбриональном развитии, когда под действием различных биологически активных веществ белковой природы устанавливается генеральный план строения зародыша, предопределяется судьба отдельных клеточных линий и целых зачатков. Во взрослом многоклеточном организме основным способом сигнализации между клетками является *нейрогуморальная регуляция*. Специальные сигнальные молекулы – *гормоны* и *нейромедиаторы*, имеющие чаще всего белковую природу, высокоспецифично связываются с определенными рецепторами на поверхности воспринимающих сигнал клеток. Следует помнить, что специфичность связывания обусловлена стереохимическим соответствием между гормоном (или другой сигнальной молекулой) и его рецептором, а это возможно только при наличии уникальной пространственной конфигурации реагирующих молекул.

Регуляторная функция. Некоторые белки могут регулировать работу других молекул, обратимо изменяя их активность. Большое значение эта функция приобретает при регуляции активности генов. Одни белки при взаимодействии с ДНК генов блокируют ее работу путем компактизации (конечный вариант компактизации ДНК с помощью белков – это *хромосомы*), другие, наоборот, разрыхляют нити ДНК, подготавливая ее к работе. Взаимное узнавание ДНК и регуляторных белков, так же, как и фермент-субстратное распознавание, основано на принципе стереохимического соответствия между молекулами.

Защитная функция. Способность организмов противостоять вторжению генетически чужеродных элементов (инородных молекул, вирусов, бактерий, простейших, многоклеточных паразитов, собственных мутировавших клеток и т.д.) и поддерживать таким образом свою генетическую индивидуальность называется *иммунитетом*. Защитные механизмы живых организмов очень разнообразны; выделяют *неспецифический* (врожденный) и *специфический* (приобретенный) иммунитет. Важным компонентом системы специфического иммунитета выступают *белки-иммуноглобулины*, или *антитела*. Благодаря специфичной трехмерной конформации (уникальной третичной структуре) и наличию молекулярной полости, антитела распознают, атакуют и обезвреживают чужеродные

объекты биологического происхождения (*антигены*), попавшие во внутреннюю среду организма.

Энергетическая функция. Как и любые органические молекулы, белки могут выступать в качестве источника энергии – при расщеплении и окислении аминокислот выделяется большое количество энергии. Однако белки используются в топке энергетического метаболизма лишь в случае их старения или при недостатке основных источников энергии – жиров и углеводов. Белки – это слишком дорогостоящее топливо: во-первых, сам процесс предварительного расщепления белков требует больших усилий и затрат, а во-вторых, уникальная третичная структура дает белку возможность выполнять множество тончайших и сложнейших видов работ, которые не под силу никаким другим макромолекулам. Можно сказать, что у белков слишком высокая миссия: именно они призваны осуществлять все те функции, без которых нет жизни, именно работа белков делает возможным сам факт существования живых систем!

Итак, **в основе всех перечисленных функций** (кроме энергетической) **лежит свойство конформационной перестройки белков** – временного изменения пространственной организации (третичной структуры) белковой молекулы. Сложная пространственная конфигурация ферментов, транспортных белков, информационных и регуляторных молекул, иммуноглобулинов, рецепторов обеспечивает *конформационную специфичность* молекулы. Так, простетическая группа фермента, которая и является каталитическим центром молекулы, таким образом лежит в её складках, что лишь молекулы определённой пространственной формы могут «протиснуться» среди свернутых полипептидных цепей и подойти сюда как ключ к замку, после чего осуществляется взаимодействие с каталитическим центром. На этом же основана специфичность белков при избирательном выполнении транспортной, рецепторной, защитной и других функций (рис. 10).

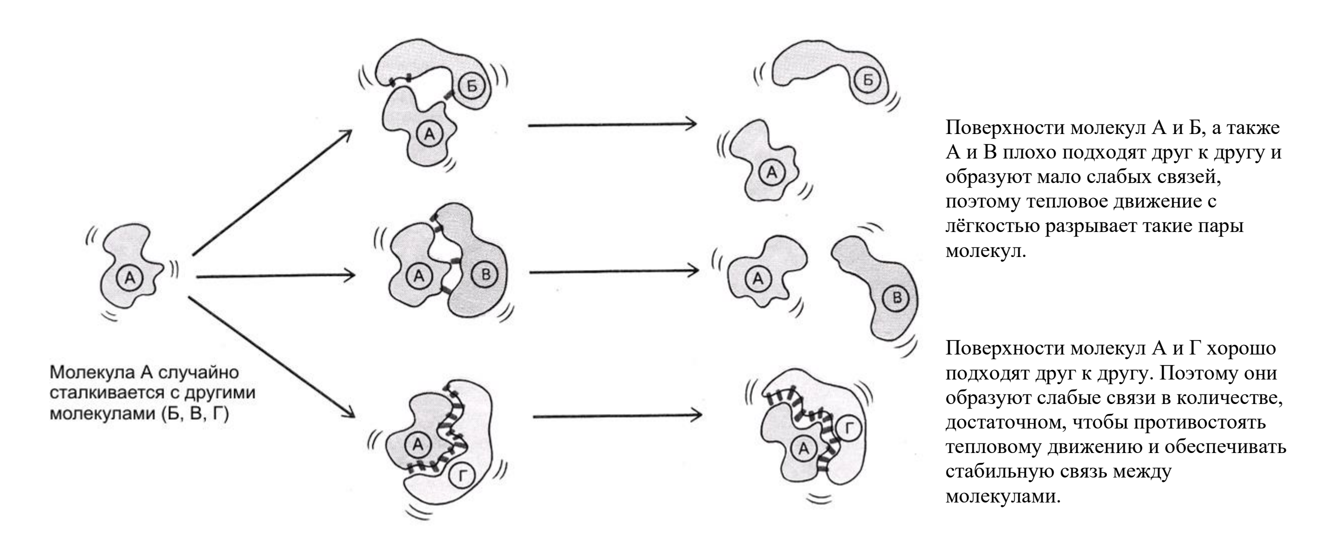
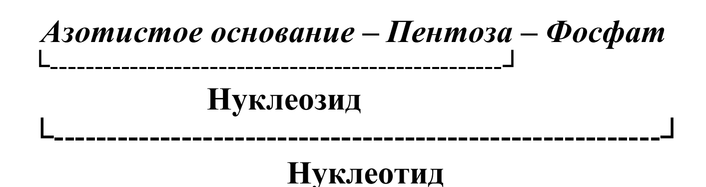


Рис. 10. Пример узнавания друг друга специфичными макромолекулами (по: Албертс и др., 1994).

(4) Нуклеиновые кислоты – полимеры, мономерами которых являются 5 видов *нуклеотидов*. Каждый нуклеотид, в свою очередь, состоит из *пуринового* или *пиримидинового* азотистого основания, пентозы (сахар с 5 атомами углерода) и остатка фосфорной кислоты.



Нуклеотиды различаются по составу азотистых оснований. Соответственно выделяют пять видов азотистых оснований. К пуриновым основаниям относятся *аденин* и *гуанин* – в их состав входят два углеродно-азотных кольца; к пиримидиновым – *цитозин, тимин* и *урацил*, они построены на основе одного кольца. Как видно, основания содержат в некоторых позициях атомы азота; отсюда и происходит их общее название – азотистые основания (рис. 11).

Рис. 11. А – пурин и пуриновые азотистые основания (производные пурина): аденин, гуанин; Б – пиримидин и пиримидиновые основания (производные пиримидина): цитозин, урацил, тимин (по: Либберт (ред.), 1982).

Существует два вида нуклеиновых кислот – *РНК* (*рибонуклеиновая кислота*) (рис. 12) и *ДНК* (*дезоксирибонуклеиновая кислота*) (рис. 13). Состав нуклеотидов РНК и ДНК отличается: в первом случае сахар-пентоза представлен *рибозой*, а во втором – *дезоксирибозой* (отсюда и названия соответствующих нуклеиновых кислот).

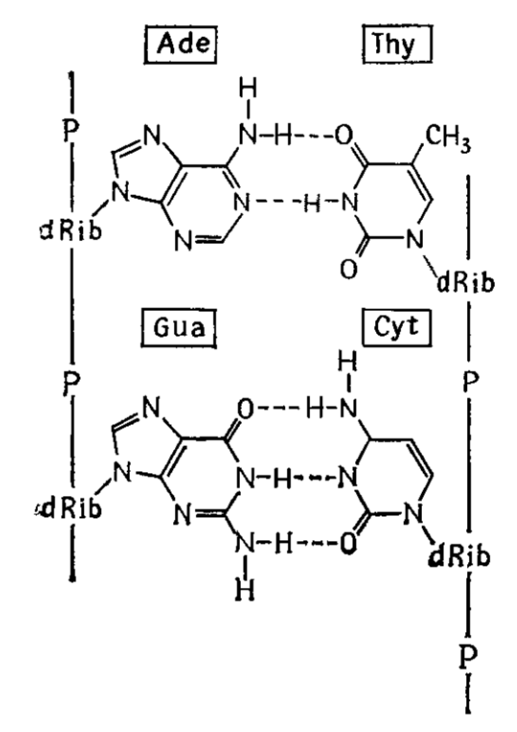


Рис. 12. Структура РНК.
Фрагмент цепи длиной в два нуклеотида, связанных через остаток фосфорной кислоты (рибоза и остатки фосфорной кислоты приведены в полном написании) (по: Либберт (ред.), 1982).

Рис. 13. Структура ДНК.
Фрагмент двойной спирали с двумя парами нуклеотидов (дезоксирибоза и остатки фосфорной кислоты приведены в сокращенном написании) (по: Либберт (ред.), 1982).

Также различается и набор азотистых оснований. В РНК присутствуют аденин, гуанин, цитозин и урацил, в ДНК – аденин, гуанин, цитозин и тимин (вместо урацила). Молекула РНК представляет собой одноцепочечную молекулу, в то время как ДНК существует в виде двойной спирали – две полинуклеотидные цепочки закручены друг вокруг друга и связаны между собой водородными связями по всей длине. При этом сахаро-фосфатные остовы цепочек обращены наружу, а азотистые основания спрятаны внутри дуплекса. Таким образом, именно между азотистыми основаниями, находящимися друг против друга в противоположных цепях ДНК, и возникают водородные связи (рис. 13). При этом выполняется *принцип комплементарности* (дополнительности) – к образованию пар способны только *комплементарные* основания: аденин соединяется строго с тимином (между ними формируются две водородные связи), а гуанин – с цитозином (образуют три водородные связи). Как видим, пуриновое основание всегда соединяется с пиримидиновым, что обеспечивает постоянный диаметр спирали по всей длине ДНК. Последовательность нуклеотидов в ДНК строго уникальна для каждой молекулы и формирует первичную структуру цепочки нуклеиновой кислоты. Вторичная структура ДНК – это двойная спираль (рис. 14). Функции нуклеиновых кислот подробно будут рассматриваться в следующей главе; пока лишь отметим, что ДНК отвечает за хранение и передачу в поколениях наследственной генетической информации, а РНК принимает непосредственное участие в реализации этой информации.

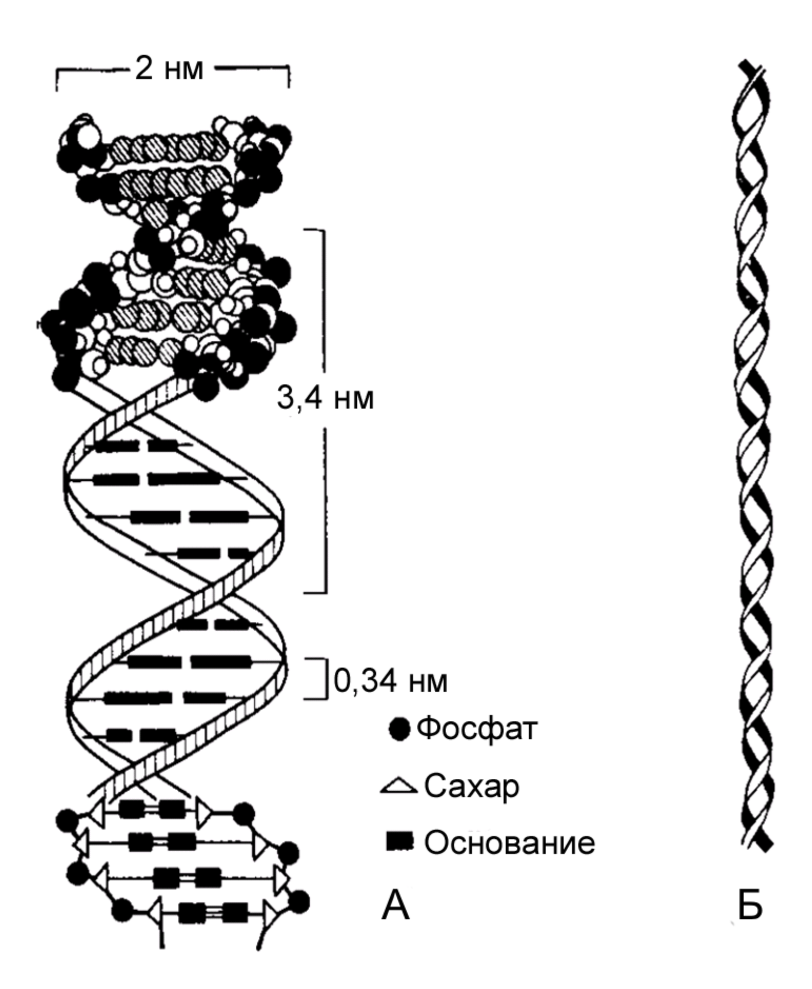


Рис. 14. Молекула ДНК. А – схема двойной спирали. В верхней части (атомарная модель) атомы фосфата показаны чёрными для обозначения хода спирали, атомы оснований заштрихованы. Кольца оснований лежат перпендикулярно плоскости бумаги. Б – упрощённое изображение двойной спирали (по: Либберт (ред.), 1982).

1.3. Клетка как самовоспроизводящаяся информационная система

Итак, из предыдущей главы явственно следует, что белки выполняют практически все жизненно важные функции и выступают, таким образом, как структурно-функциональная основа жизни. Однако белки – это недолгоживущие молекулы, они стареют, разрушаются и утрачивают способность работать. Отсюда проистекает необходимость их постоянного воспроизведения. Однако для воссоздания полноценно функционирующей белковой молекулы необходимо воспроизвести ее уникальную третичную структуру. Напомним, что третичная структура формируется за счет образования связей между определенными аминокислотами и, соответственно, полностью определяется положением аминокислот в полипептидной цепи (первичной структурой белка). Значит, при синтезе белка необходимо каждый раз заново воссоздавать его уникальную аминокислотную последовательность. Действительно, синтез белков в клетке осуществляется не случайным образом, а в соответствии со строго определенной информацией. **Информация о строении белка (о его первичной структуре) закодирована в ДНК в виде последовательности нуклеотидов.** Молекула ДНК поделена на смысловые фрагменты – *гены*. Ген – это участок молекулы ДНК, являющийся единицей наследственной информации и ответственный за синтез одного вида белка, т.е. за формирование какого-либо элементарного признака. Ведь все свойства организма, так или иначе, определяются белками, и при этом каждый белок отвечает за выполнение какой-либо определённой биологической функции. Однако формула «один ген – один белок» имеет немало исключений. На основе одного гена иногда может синтезироваться несколько близкородственных белков. В других случаях ген может синтезировать лишь отдельную субъединицу белка, состоящего из нескольких субъединиц. Надо иметь в виду, что существуют так называемые *регуляторные гены*, продукты которых не участвуют непосредственно в строительстве и функционировании клетки, но влияют на активность *структурных* генов, кодирующих разнообразные белки (см. выше). Кроме того, некоторые гены вообще не кодируют белка, но производят молекулы РНК, выполняющие важные вспомогательные функции.

Совокупность всех генов данного организма формирует его *генотип*, а совокупность всех признаков, реализующихся при данном генотипе (т.е., другими словами, совокупность всех белков, синтезируемых в этом организме), объединяют понятием *фенотип.*

Каждая аминокислота, входящая в состав того или иного белка, кодируется в молекуле ДНК определенной комбинацией из трех нуклеотидов – *триплетом.* **Принцип кодирования определенных аминокислот с помощью соответствующих триплетов нуклеотидов называется *генетическим кодом*.** *Триплетность* генетического кода вытекает из необходимости закодировать 20 аминокислот с помощью всего лишь 4 нуклеотидных оснований – аденина, гуанина, цитозина и тимина. Если бы каждая аминокислота соответствовала одному нуклеотиду, это позволило бы зашифровать всего 4 аминокислоты. Создание комбинаций из четырех нуклеотидов, взятых по два, дает возможность закодировать 16 аминокислот ($4^2 = 16$). Этого также недостаточно для того, чтобы зашифровать все 20 аминокислот. Поэтому в качестве кодирующей единицы берется комбинация из трех нуклеотидов – триплет. Число таких комбинаций равно 64 ($4^3 = 64$) (рис. 15). Таким образом, остаются 44 «лишние» комбинации. Такая ситуация позволяет закодировать аминокислоты не одним вариантом триплета, а несколькими; это свойство генетического кода получило название *вырожденность*, или *избыточность*. Как видно из таблицы кода (рис. 15), для кодирования аминокислот используется 61 вариант триплетов; три оставшихся триплета (UAA, UAG и UGA) не участвуют в кодировке, а являются *стоп-кодонами* – своеобразными «знаками препинания», разделяющими гены при их прочтении. Еще одно важное свойство кода – его *универсальность*; это означает, что генетический код «читается» одинаково у всех живых организмов на Земле – от вирусов до млекопитающих.

Генетический код расшифровывается и реализуется в строении белка с помощью трех видов РНК: *матричной*, или *информационной* (*мРНК*, или *иРНК*), *транспортной* (*тРНК*) и *рибосомной* (*рРНК*). Этот процесс возможен только в условиях скоординированных

действий многих участников. Несмотря на то, что главными действующими лицами здесь являются макромолекулы, условия для их согласованной работы создаются только на клеточном уровне. Подробно механизм реализации генетической информации будет рассмотрен в следующей главе.

При размножении клеток и целых организмов генетическая информация передается в дочерние клетки и организмы. В основе воспроизведения генетической информации лежит процесс удвоения ДНК – *репликация*. Таким образом, **информация о структуре белков наследуется**, поэтому генетическую информацию называют также *наследственной информацией*. Клетка является самовоспроизводящейся системой, несущей информацию о самой себе.

Первое положение (5'-конец)	Второе положение: U	C	A	G	Третье положение (3'-конец)
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	Стоп	Стоп	A
	Leu	Ser	Стоп	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	Met	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

Рис. 15. Таблица кодирования аминокислот триплетами нуклеотидов. При синтезе белка триплеты нуклеотидов РНК (кодоны) транслируются в соответствующие им аминокислоты. Например, кодоны GUG и GAG направляют в белок соответственно валин (Val) и глутаминовую кислоту (Glu) (по: Либберт (ред.), 1982).

На протяжении жизни клетка также получает внешнюю, *эпигенетическую информацию*. Фенотип любого организма определяется не только генотипом, но также зависит от условий окружающей среды. Любой наследуемый нами признак не является неизменной, постоянной величиной, он может варьировать в некоторых пределах, как говорят, имеет определенную *норму реакции*. Вариативность выражения признака обусловлена тем, что гены могут работать с разной интенсивностью. Активность гена, проявляющуюся в количестве синтезируемого с него белка, называют *экспрессией гена*. Экспрессия генов находится под контролем эпигенетической информации, т.е. всевозможных сигналов внешней среды. В качестве внешнего сигнала для генов может выступать характер окружающей цитоплазмы (содержание и распределение в ней различных веществ, регулирующих генную активность), что особенно ярко проявляется в раннем эмбриональном развитии. На более поздних стадиях развития организма клетки получают возможность регулировать экспрессию генов под воздействием сигнальных молекул, вырабатываемых соседними клетками. Во взрослом состоянии преобладает гуморальная регуляция, главным образом с помощью гормонов и других сигнальных молекул, синтезируемых железами внутренней секреции и переносимых с кровью. Выше уже

говорилось о том, что на поверхности клеток имеются рецепторы, распознающие химические сигналы. Некоторые рецепторы специализированы на восприятие физических сигналов, например, света, звука, тепла, давления и т.д. Такой рецептор структурно находится в состоянии неустойчивого равновесия, и энергия физического воздействия легко меняет его конформацию. В любом случае, конформационная перестройка рецептора влечет за собой передачу сигнала дальше в цитоплазму – на рабочие структуры клетки, а также и в клеточное ядро – на ДНК. В ответ на это информационное воздействие изменяется уровень клеточного метаболизма, запускаются те или иные реакции, синтезируются те или иные белки. С другой стороны, клетка сама посылает сигналы во внешнюю среду, вырабатывая свои сигнальные молекулы, синтезируя внеклеточный матрикс, создавая механическое напряжение и т.д.

Таким образом, между клеткой и внешней средой идет беспрерывный поток информации. **Взаимодействие генетической и эпигенетической информации определяет характер развития и поведение клетки**, как и целого живого организма, в окружающей среде. Все это позволяет называть клетку открытой информационной системой.

1.4 Клетка как упорядоченная структурированная система

Клетка – сложнейшая природная биохимическая «лаборатория». Для самостоятельного существования во внешней среде необходимо синтезировать не менее 1000 белков. Для полного синтеза и созревания макромолекул – синтеза первичной последовательности, отщепления или присоединения отдельных групп атомов, перестановки частей макромолекулы, задания ей необходимой пространственной конфигурации – необходимы строго контролируемые условия. Созревая, молекула может участвовать в длинной цепи биохимических превращений, одновременно являясь катализатором для синтеза других веществ. Очевидно, что многочисленные реакции метаболизма, протекающие в клетке, требуют изоляции по отсекам. Если мы сольем вместе все реактивы большой лаборатории, то получим в результате бесполезный и непригодный для какого-либо синтеза конгломерат; так и в клетке все химические процессы должны быть строго разделены и упорядочены в пространстве и времени. Сама клетка как живая система образовалась тогда, когда в ходе эволюции возник некий изолированный от среды объем со своим градиентом веществ, со своей структурой, отличной от структуры окружающей среды. В роли универсального изолятора, отделившего внутреннее содержимое клетки от внешней среды, выступили липидно-белковые *биологические мембраны.* Липидная фракция биомембраны обеспечивает ее барьерную функцию (благодаря гидрофобнным свойствам хвостов молекул липидов, отталкивающих воду и растворенные в ней вещества). С другой стороны, встроенные в билипидный слой белки играют роль транспортных каналов, осуществляющих контролируемый перенос нужных веществ в клетку и из нее. Таким образом, клеточная мембрана обладает *избирательной проницаемостью*.

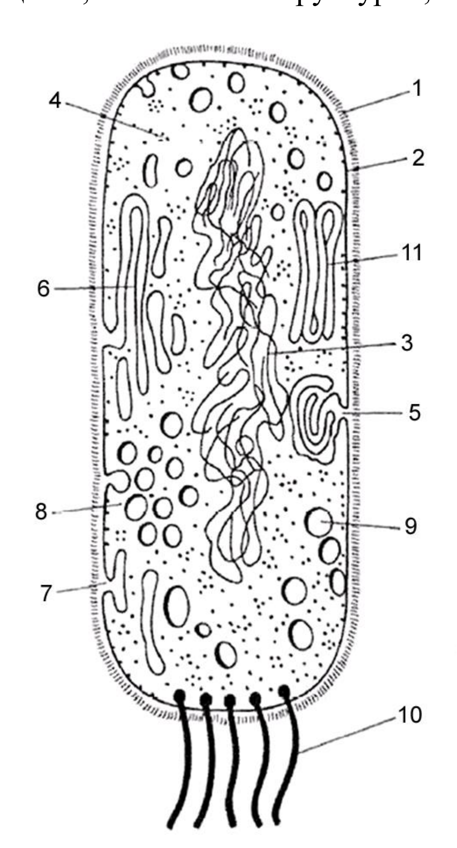


Рис. 16. Комбинированная схема прокариотической клетки. 1 – клеточная стенка; 2 – плазматическая мембрана; 3 – ДНК нуклеоида; 4 – полирибосомы цитоплазмы; 5 – мезосома; 6 – ламеллярные структуры; 7 – впячивания плазмалеммы; 8 – скопления хроматофоров; 9 – вакуоли с включениями; 10 – бактериальные жгутики; 11 – пластинчатые тилакоиды (по: Ченцов, 2004).

Затем, по мере возрастания биохимической и биофизической сложности внутриклеточных процессов, их дифференциации, внутри этого первичного объема (простейшей клетки) образовались внутренние мембранные отсеки (органоиды), предназначенные для выполнения отдельных функций. В английском варианте слову *отсек* соответствует слово *компартмент*. Процесс создания отсеков называется *компартментализацией.*

По степени компартментализации различают два типа клеток: *прокариотические* (дословно – доядерные) и *эукариотические* (т.е. с настоящим ядром). Соответственно, выделяют два надцарства организмов (по типу входящих в их состав клеток) – *прокариоты* и *эукариоты*. К прокариотам относятся археи и бактерии. Прокариотическая клетка очень мала, ее размер составляет около 1 мкм. Она относительно примитивно устроена, не имеет мембранных органоидов, в том числе оформленного ядра. Все метаболические процессы протекают прямо в цитоплазме или на мембранных структурах, производных от наружной плазматической мембраны (рис. 16).

Эукариотическая клетка возникла в эволюции намного позже; ее линейный размер на порядок превышает размер бактериальной клетки и составляет обычно 10—20 мкм, а часто и много больше. Внутри эукариотической клетки сформировались ядро и другие органоиды, в которых и протекают основные внутриклеточные процессы (рис. 17). К эукариотам относятся все царства живых организмов кроме архей и бактерий, – протисты, грибы, растения и животные, включая человека.

В эукариотической клетке структурно можно выделить, прежде всего, *протоплазму* – все внутреннее содержимое клетки и *плазматическую мембрану*, называемую также *плазмалеммой*. Протоплазма, в свою очередь, подразделяется на *ядро* и прочее внутриклеточное содержимое – *цитоплазму.* Цитоплазму можно разделить на *органоиды* (*органеллы*), к которым относятся все достаточно крупные внутриклеточные структуры кроме ядра, и *гиалоплазму,* или *цитозоль* – жидкую или гелеобразную составляющую цитоплазмы клетки с растворенными в ней веществами, а также веществами, находящимися в состоянии коллоидной взвеси.

В составе эукариотической клетки можно выделить ряд структурно-функциональных систем:

1) ***генетический аппарат*** – клеточное ядро у эукариот, либо нуклеоид (см. ниже) у прокариот;
2) ***аппарат пластического метаболизма*** – рибосомы, эндоплазматическая сеть (гладкая и шероховатая), аппарат Гольджи, лизосомы;
3) ***аппарат энергетического метаболизма*** – митохондрии, пластиды;
4) ***опорно-двигательный аппарат*** – белковые структуры цитоскелета и органоиды движения;
5) ***поверхностный аппарат*** – плазматическая мембрана и непосредственно прилежащие к ней структуры.

Органоиды можно разделить на *мембранные* – те, что окружены липидной мембраной, и *немембранные*, как правило, представленные глобулярными (рибосомы) и фибриллярными (цитоскелет) структурами (рис. 18).

Кроме эукариотических и прокариотических клеток в природе существуют *вирусы* – структуры, состоящие из небольшой молекулы ДНК или РНК, окруженной белковой или гликопротеиновой (а иногда и липидной) капсулой. Вирусы не могут существовать самостоятельно во внешней среде, поскольку не имеют собственного метаболического аппарата. При попадании в клетку организма-хозяина ДНК вируса выходит из оболочки, встраивается в геном клетки и размножается, а также синтезирует белки оболочек новых вирусных частиц, используя внутриклеточные механизмы хозяина. В результате в клетке происходит самосборка множества новых вирусных частиц, которые затем покидают клетку и пребывают в покоящемся состоянии до тех пор, пока не найдут нового хозяина. Так как вирусы не способны самостоятельно поддерживать процессы своей жизнедеятельности, они

не могут считаться полноценными живыми организмами. Происхождение вирусов неизвестно. Предполагается, что это усовершенствовавшиеся мобильные, блуждающие участки геномов других организмов. По другой гипотезе вирусы представляют собой клетки-паразиты, редуцировавшие свои свойства до неживого состояния (рис. 19).

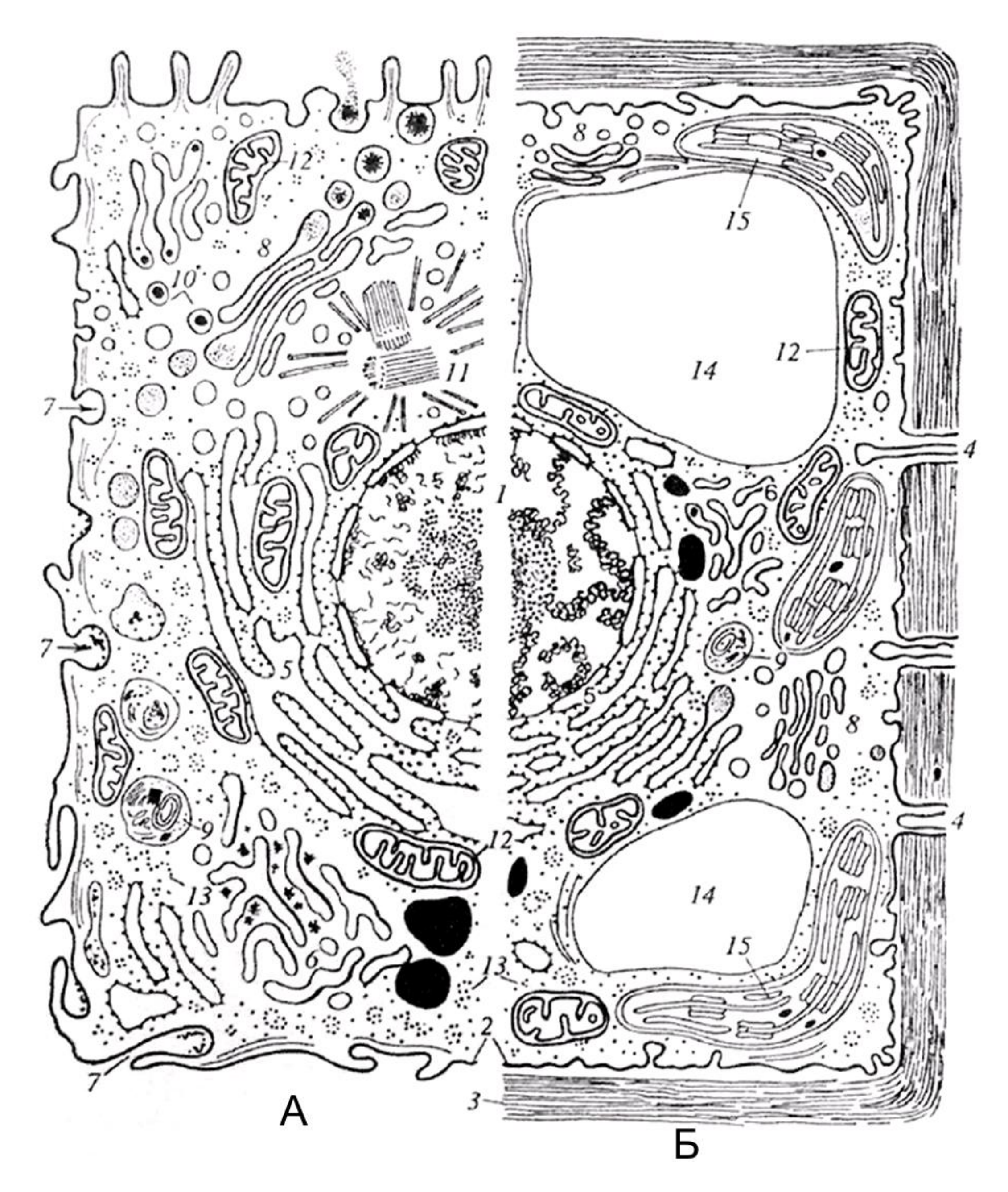


Рис. 17. Комбинированная схема строения эукариотической клетки (по: Ченцов, 2004). А – клетка животного происхождения; Б – растительная клетка. 1 – ядро с хроматином и ядрышком; 2 – плазматическая мембрана; 3 – клеточная стенка; 4 – плазмодесма; 5 – гранулярный (шероховатый) эндоплазматический ретикулум; 6 – гладкий эндоплазматический ретикулум; 7 – пиноцитозная вакуоль; 8 – аппарат Гольджи; 9 – лизосома; 10 – жировые включения в гладком ретикулуме; 11 – центриоли и микротрубочки центросферы; 12 – митохондрии; 13 – полирибосомы гиалоплазмы; 14 – центральная вакуоль; 15 – хлоропласт.



Рис. 18. Основные компоненты эукариотической клетки.

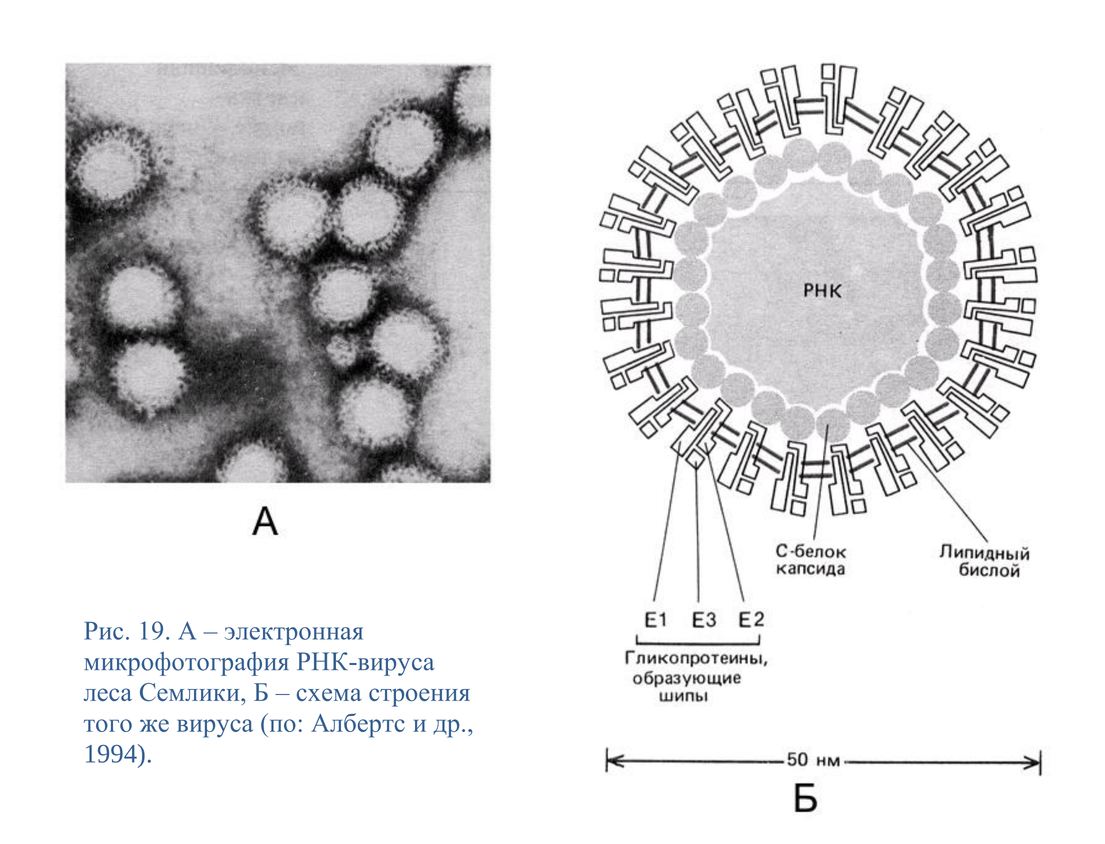


Рис. 19. А – электронная микрофотография РНК-вируса леса Семлики, Б – схема строения того же вируса (по: Албертс и др., 1994).

1.5. Клеточная теория

Обобщая все сказанное, подытожим: что же такое клетка?

Клетка – это ограниченная липидно-белковой мембраной, структурированная, термодинамически открытая, самоподдерживающаяся и самовоспроизводящаяся система биополимеров, основными из которых являются белки и нуклеиновые кислоты (по определению Ченцова, 2004).

Основные представления о строении клеток, об их размножении и роли в формировании многоклеточных организмов обобщены в нескольких положениях *клеточной теории*. Изначально клеточная теория была выдвинута в 1839 году Шванном, но она содержала ложное представление Шлейдена о формировании новых клеток из неклеточного вещества. Когда стало ясно, что новообразование клеток происходит только путем их деления (Вирхов, 1855), в клеточной теории утвердились три основных постулата:

1. Все живое состоит из элементарных единиц – клеток;
2. Клетки разных организмов гомологичны (сходны) по строению и свойствам;
3. Каждая клетка происходит от другой клетки путем деления.

Последовавшие в XX веке открытия в области клеточной биологии позволяют расширить сложившиеся ранее представления о принципах строения и функционирования клеток. Если дать более развернутую трактовку некоторым утверждениям клеточной теории, можно сформулировать квинтэссенцию современного учения о клетке:

Итак, *клетка – элементарная, наименьшая единица живого, вне клетки нет жизни*. При этом клетка представляет собой *единую систему, элементы которой связаны между собой в целостное образование*. Любую клетку можно «разложить» на ряд независимых структурно-функциональных компонентов, выполняющих свои специфические функции: *цитоскелет* – опорная и двигательная система клетки; *митохондрии* – система энергообеспечения; *рибосомы, эндоплазматическая сеть, аппарат Гольджи* – система пластического метаболизма, обеспечивающая синтез важнейших макромолекул, и т. д. Все эти подсистемы находятся во взаимозависимости: например, разрушение митохондрий ведет к прекращению всех синтетических и обменных процессов в клетке, разрушение элементов цитоскелета блокирует внутриклеточный транспорт и т.д.

Клетки увеличиваются в числе путем деления исходной клетки (после удвоения генетического материала): каждая клетка от клетки ("omnis cellula e cellulae"). Современная наука отвергает иные пути образования клеток и увеличения их числа.

Клетки сходны (гомологичны) по строению и основным свойствам. *Гомология* – это сходство сравниваемых объектов, основанное на общности их происхождения (гомологии противопоставляется *аналогия* – простое внешнее или функциональное сходство, без исторического родства). Например, гомологичны друг другу рука человека, крыло птицы, передняя нога лошади, поскольку их общий, хотя и не совсем аналогичный, план строения обусловлен общим происхождением. Можно говорить, что разные клетки, будь то одноклеточные протисты или отдельные клетки многоклеточных организмов (животных или растительных), в силу общности своего происхождения имеют определенное принципиальное сходство в организации и функционировании, т.е. гомологичны. В то же время разные клетки не аналогичны, поскольку внешне они могут сильно различаться. У одноклеточных это может зависеть от способа приспособления организма к окружающей среде, у многоклеточных – от степени развития тех или иных органоидов в клетках разной специализации.

В соответствии с этим *многоклеточный организм представляет собой систему из множества клеток, объединенных в ткани и органы и связанных между собой в единое целое сетью химических и нервных регуляций*. Всякий многоклеточный организм состоит из множества специализированных (*дифференцированных*) клеток, строение которых оптимизировано для выполнения той или иной функции. Чем выше эволюционный уровень организма, тем более выражено в нём «разделение труда» между различными клетками, тканями и органами. Соответственно, тем больше появляется клеточных типов, ответственных за выполнение узкоспецифических функций. Так, человеческий организм состоит примерно из 220 типов клеток. Рассмотрим для примера такую функцию, как пищеварение. Эту функцию можно разложить на ряд подфункций, каждая из которых осуществляется за счет деятельности специализированных (дифференцированных) клеточных типов. Различные типы дифференцированных секреторных клеток, входящих в состав слюнных желез, слизистой оболочки желудка и кишечника, специализируются на

выделении пищеварительных ферментов, а также соляной кислоты, входящей в состав желудочного сока, и слизи, защищающей ткани от «самопереваривания» и облегчающей продвижение пищи по желудочно-кишечному тракту. Дифференцированные всасывающие клетки обеспечивают всасывание продуктов пищеварения в кровь. Мышечные клетки, входящие в состав круговых и продольных мышц кишечника, сокращаются, обуславливая его перистальтику и выведение непереваренных остатков из организма. *Стволовые* (недифференцированные) клетки делятся и производят новые клетки, которые приходят на смену старым и отработавшим. Таким образом, *любое физиологическое проявление организма можно свести к работе отдельных клеток*. Так же любое нарушение нормальной деятельности организма можно рассматривать как нарушение работы отдельных клеток или как нарушение межклеточных взаимодействий.

Несмотря на достаточно узкую специализацию, *все клетки многоклеточного организма обладают одинаковыми генетическими потенциями*. Различия же (морфологические и функциональные) обусловлены тем, что *в клетках разных типов дифференцировки работают разные группы генов*. Многоклеточный организм развивается из одной клетки – *зиготы*, образующейся при слиянии мужской и женской гамет. Каждая клетка организма, формирующегося путем дробления зиготы, благодаря особенностям протекания *митоза* (способа клеточного деления, который будет рассмотрен нами в дальнейшем) наследует ту же генетическую информацию, которая изначально содержалась в зиготе. Однако используется эта информация в каждом типе клеток не целиком, а только та ее часть, которая необходима клетке для поддержания ее собственной жизнедеятельности и выполнения своих специфических функций. Остальные гены, отвечающие за выполнение функций, не присущих данному типу дифференцировки, заблокированы и находятся в клетке в неактивном состоянии. Активировать заблокированные гены и искусственно изменить специализацию клеток можно в лабораторных условиях – в клетках, культивированных in vitro (буквально «в стекле»). Если пересадить ядро соматической клетки (в том числе и дифференцированной) в яйцеклетку (или зиготу), удалив предварительно оттуда «родное» ядро, можно получить полноценный организм со всеми присущими ему типами дифференцированных клеток (так осуществляют *клонирование* организмов – дочерний организм будет полностью дублировать ту особь, от которой взяли ядро для пересадки). Эти эксперименты еще раз подтверждают, что в ядре дифференцированных клеток организма, несмотря на узкую специализацию, содержится полная информация о путях развития, строении и функционировании всего многообразия клеточных типов данного организма. Трудность таких экспериментов может состоять, правда, в том, что ряд генов у специализированных клеток заблокирован настолько прочно, что включить их бывает достаточно сложно. А невключение (или несвоевременное включение) одного единственного гена иногда может привести к невозможности дальнейшего развития и смерти организма.

Тема 2. Генетический аппарат клетки

2.1. Центральная догма молекулярной биологии. Биосинтез белков

В предыдущей теме достаточно подробно говорилось о том, что выполнение всех жизненно важных функций возможно благодаря уникальным макромолекулам – белкам. Высокая специфичность пространственной конформации (третичной структуры) белка, необходимая для его нормальной работы, поддерживается за счет того, что аминокислоты в полипептидной цепи располагаются в строго определенной последовательности. Информация о последовательности аминокислот в белках (наследственная, или генетическая информация) хранится и передается в клетке с помощью макромолекул другого типа – нуклеиновых кислот ДНК и РНК. ДНК ответственна за хранение и наследование генетической информации, РНК – за ее реализацию. В результате скоординированной работы трех видов РНК – мРНК, тРНК и рРНК, а также многочисленных внутриклеточных

ферментов, осуществляется синтез белковых молекул. Это важнейшее обобщение получило название ***центральной догмы молекулярной биологии*** (***ЦДМБ***) и в кратком виде может быть изображено следующим образом:

ДНК → РНК → белок.

Стрелками в данном случае показана передача генетической информации. Как видно из схемы, этот процесс носит однонаправленный характер, исключающий прочтение генетического кода в обратном направлении, т.е. с белка на ДНК. Итак, каким образом происходит воплощение генотипа в фенотип, т.е. нуклеотидных последовательностей ДНК в аминокислотные последовательности белков?

Синтез белка начинается с ***транскрипции*** (от лат. *transcriptio* – переписывание) – «переписывания» информации с ДНК на РНК, в результате чего в клетке происходит многократное копирование нужного гена. У прокариот этот процесс происходит прямо в цитоплазме; в эукариотической клетке для хранения генетического материала (ДНК) имеется специальный компартмент – *клеточное ядро*, там же и происходит транскрипция. При этом двухцепочечная молекула ДНК на определенном участке временно раскручивается за счет разрыва водородных связей между комплементарными нуклеотидами, а точнее, между их азотистыми основаниями. С помощью фермента *РНК-полимеразы* вдоль одной из цепей ДНК производится подбор свободных комплементарных нуклеотидов из ядерного сока и присоединение их по месту обнажившихся водородных связей. Таким образом, из свободных нуклеотидов бок о бок с цепью ДНК по принципу комплементарности формируется одноцепочечная молекула *матричной*, или *информационной*, РНК (мРНК, или иРНК), которая является полной копией одной из цепей ДНК, за исключением того, что вместо тимина в состав РНК по тем же позициям включается урацил (рис. 20). В этом случае транскрибируемый участок молекулы ДНК выступает в роли некоего образца, *матрицы* для синтеза другой макромолекулы – РНК, а в дальнейшем и белка. Такие синтезы принято называть *матричными*.



Рис. 20. Передача информации с ДНК на мРНК и далее на белок: матричный синтез биополимеров в клетке (по: Ченцов, 2004).

Следующий этап синтеза белка называется ***трансляцией*** (от лат. *translatio* – перевод). В этом процессе задействованы следующие компоненты: *мРНК* (в качестве рабочей копии гена), *рибосомы* и молекулы *транспортных* РНК (тРНК).

Рибосомы – это очень мелкие клеточные органоиды (размером всего 25 нм), не имеющие мембранного строения, предназначенные для синтеза белковых молекул. Рибосома состоит из двух субъединиц – большой и малой. Каждая субъединица представляет собой *рибонуклеопротеидный комплекс*, т.е. состоит из *рибосомной* РНК (рРНК) и определенного набора белков. Всего в состав эукариотической рибосомы входят около 80 белков (30 в малую субъединицу и 50 – в большую) и 4 молекулы РНК: 18S РНК (формирует скелет малой субъединицы), 28S РНК, 5,8S РНК и 5S РНК (образуют основу большой

субъединицы). Символом *S* обозначаются *единицы Сведберга*, в которых измеряется *коэффициент седиментации* (осаждения) частиц из суспензии при центрифугировании. Этот коэффициент служит косвенным показателем веса частиц. Эукариотическая рибосома в собранном состоянии имеет коэффициент седиментации 80S, а ее субъединицы – 60S и 40S. У прокариот соответствующие характеристики составляют 70S, 50S и 30S. Большая и малая субъединицы соединяются только в момент синтеза белковой молекулы; после окончания трансляции рибосома вновь разбирается на отдельные субъединицы и в таком разобранном виде существует до начала следующего своего цикла в синтезе белка (рис. 21).

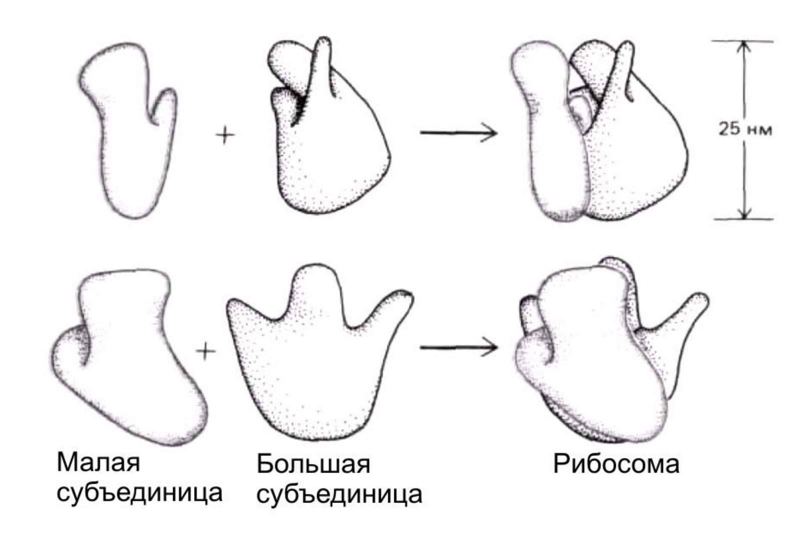


Рис. 21. Рибосома в разных проекциях (по: Албертс и др., 1994).

Транспортная РНК (тРНК) – это молекула особой конфигурации в виде клеверного листа (рис. 22). Такую трехлопастную конформацию молекуле тРНК придают водородные связи между комплементарными нуклеотидами, стоящими в определенных положениях вдоль линейной молекулы, стягивая соответствующие участки цепи в петли. Таким образом, тРНК сочетает в себе одно- и двухцепочечную структуры. Триплет, располагающийся на средней лопасти клеверного листа, – *антикодон* – предназначен для комплементарного связывания с соответствующим триплетом на мРНК – *кодоном*. Каждая разновидность тРНК имеет свой вариант антикодона. Напомним, что на основе 4 нуклеотидов, взятых по три штуки, теоретически можно построить 64 комбинации триплетов. Реально используется 61 комбинация, и, соответственно, существует 61 вид тРНК (см. рис. 15). Противоположный антикодону (свободный) конец молекулы тРНК предназначен для связывания со строго определенной, одной из 20, аминокислот.

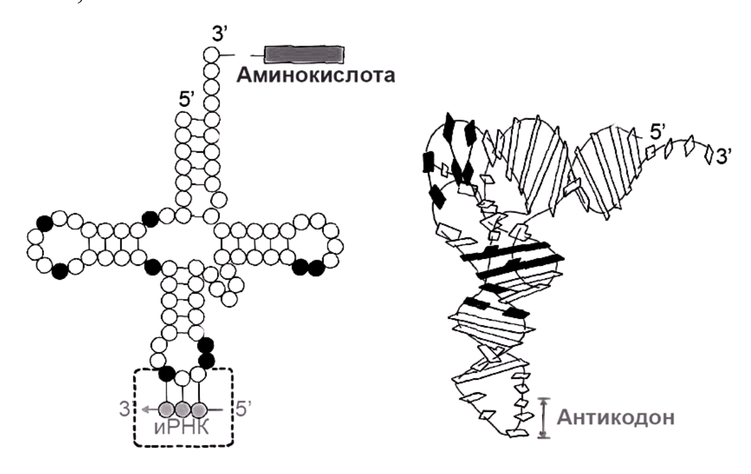


Рис. 22. Вторичная и третичная структуры тРНК. Внизу – антикодон (на тРНК), комплементарно связанный с кодоном (на иРНК) (по: Албертс и др., 1994).

В момент трансляции рибосома нанизывается на нить мРНК, захватывая участок молекулы длиной в несколько триплетов нуклеотидов. При этом две субъединицы одной рибосомы соединяются, и нить матричной РНК оказывается втиснутой в щель между ними. Сюда же подходят две молекулы тРНК, нагруженные аминокислотами – каждая своей аминокислотой, если трансляция только началась, и белковой цепи как таковой еще нет. Если же процесс трансляции продвинулся хотя бы на один шаг, то одна из тРНК теперь несет уже частично синтезированную цепь белка из двух или более аминокислот. Одновременное нахождение в рибосоме молекулы мРНК и двух молекул тРНК возможно благодаря тому, что в рибосоме имеется *функциональный центр* с тремя различными участками для связывания РНК – один для мРНК и два для тРНК. В центр попадает участок молекулы мРНК протяженностью в два триплета (два кодона). Что касается участков для связывания тРНК, то один из них удерживает молекулу тРНК, присоединенную к растущему концу полипептидной цепи (поэтому его называют *пептидил-*т*РНК-связывающим участком*, или *П-участком*), а второй служит для удержания только что прибывшей молекулы тРНК, нагруженной аминокислотой, и называется *аминоацил-*т*РНК-связывающим участком*, или *А-участком*. К обоим участкам молекулы тРНК прикрепляются лишь в том случае, если их антикодоны оказываются комплементарными кодонам мРНК, находящимся на данный момент в рибосоме. Когда две тРНК оказываются в рибосоме рядом друг с другом, между последней аминокислотой растущей белковой цепи и вновь прибывшей аминокислотой возникает ковалентная пептидная связь – белковая цепь удлиняется еще на одну аминокислоту и «перебрасывается» с одной тРНК на другую. «Опустевшая» тРНК теряет связь с кодоном мРНК и выводится из П-участка рибосомы. Затем рибосома перемещается вдоль цепи мРНК на один триплет, при этом оставшаяся в рибосоме тРНК занимает освободившийся П-участок, а на ее место (в освободившийся А-участок) подбирается новая тРНК с очередной аминокислотой. Так рибосома движется вдоль молекулы мРНК, захватывая все новые и новые кодоны и вовлекая в процесс все новые и новые тРНК с пришитыми к ним аминокислотами. В результате формируется полипептид с уникальной первичной структурой белка, т.е. с уникальной последовательностью аминокислот (рис. 23). Уникальность достигается благодаря тому, что тРНК не просто транспортируют нужные аминокислоты к месту синтеза белка, а выстраивают их в строго определенном порядке, который задается порядком расположения триплетов (кодонов) на мРНК. Они (тРНК) фактически узнают, в какое место подставить данную аминокислоту (узнавание происходит благодаря антикодону, который либо находит, либо не находит «свой», комплементарный ему кодон на участке мРНК, захваченной рибосомой в данный момент времени).

Обычно сразу насколько рибосом садится на одну молекулу мРНК, одевая её «ёлочкой» из новосинтезирующихся белковых «веточек». Такая цепочка, состоящая из одной нити мРНК с нанизанными на нее множественными рибосомами, называется *полисомой* (рис. 24).

Кроме триплетов, кодирующих аминокислоты, имеются 3 триплета, UAA, UAG и UGA, которые являются *стоп-кодонами* на мРНК. Дойдя до них, рибосома прекращает синтез белка; таким образом, стоп-кодон на пути рибосомы обозначает конец белковой цепи (рис. 24). Участок рибосомы, распознающий целые триплеты нуклеотидов РНК, называется *рамкой считывания*. Ясно, что процесс синтеза белковой молекулы должен начаться точно с первого нуклеотида; если рамка считывания сместится хотя бы на один нуклеотид, все триплеты автоматически изменяют свое содержание. Следует понимать, что в отличие от этой ситуации смещение на один целый триплет ведёт лишь к потере первой аминокислоты в белке, но не затрагивает другие аминокислоты.

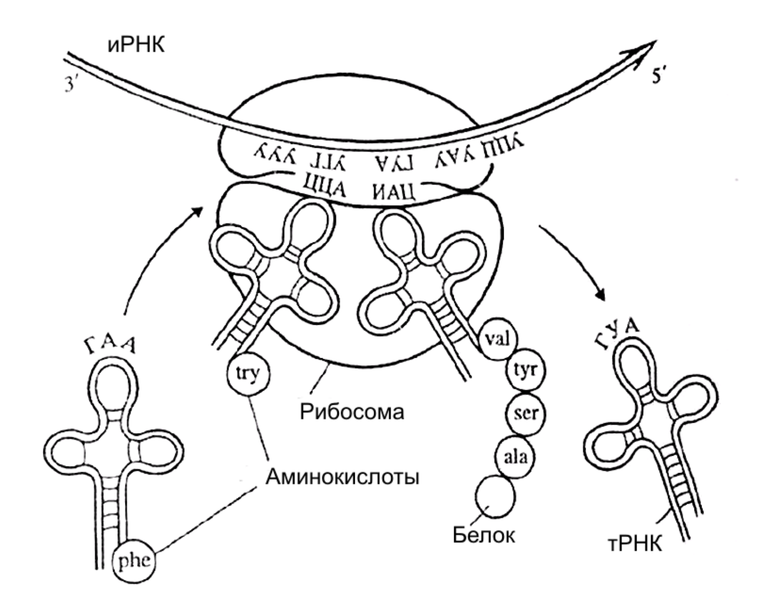


Рис. 23. Схема функционирующей рибосомы (по: Ченцов, 2004).
На правой тРНК находится растущая цепь белка из аминокислот, на левой – пока не связанная аминокислота. Благодаря пептидной связи между аминокислотами try и val белковая цепочка «перебрасывается» с правой тРНК на левую. Затем рибосома смещается на один триплет влево. Опустевшая правая тРНК «вываливается» из рибосомы, ее место теперь занимает бывшая левая, уступив свое место новой тРНК.

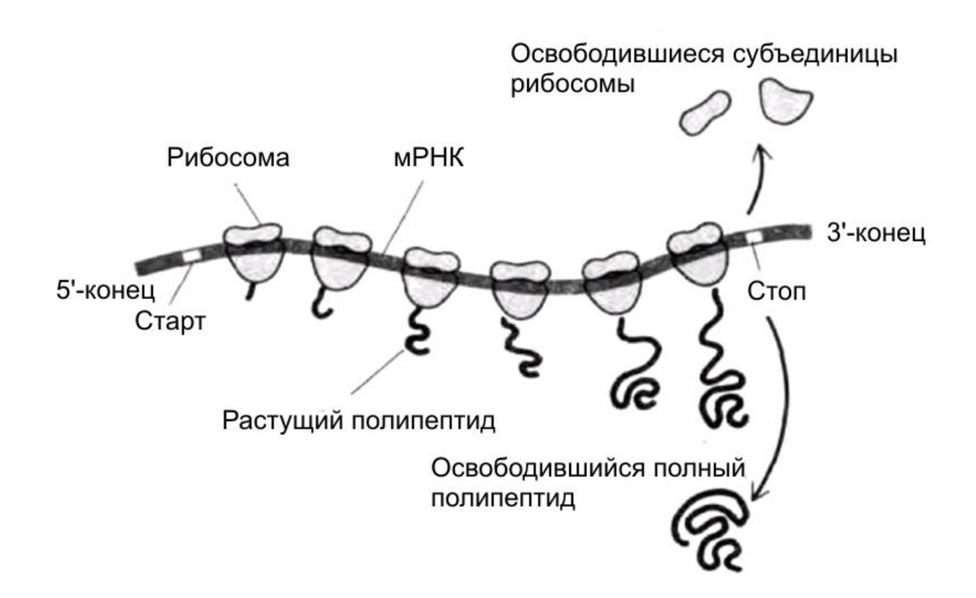


Рис. 24. Схема синтеза белка на рибосомах. Рибосомы присоединяются к стартовому сигналу вблизи 5'-конца молекулы мРНК и передвигаются к 3'-концу, синтезируя по пути белок. Часто по одной молекуле мРНК движутся одновременно несколько рибосом, синтезируя несколько идентичных полипептидных цепей; такая структура в целом называется полисомой (по: Албертс и др., 1994).

Теперь мы можем обобщить и расширить свое понимание центральной догмы молекулярной биологии. Информация о первичной структуре всех белков, формирующих фенотип данного организма, закодирована в молекулах ДНК в виде последовательности нуклеотидов (генотип). При этом каждому белку соответствует свой участок на молекуле ДНК – *ген.* Информация транскрибируется (переписывается) в последовательность нуклеотидов мРНК согласно принципу комплементарности, а затем транслируется (переводится) на рибосомах, воплощаясь в структуру белка. В ходе трансляции происходит расшифровка генетического кода благодаря скоординированной работе трех видов РНК. В

обратном направлении, т.е. от белка к РНК и далее к ДНК, информация передаваться не может (у ретровирусов, впрочем, двухцепочечная нить ДНК синтезируется по одноцепочечной нити РНК, но эта особенность не нарушает правила: информация передается от нуклеиновой кислоты к белку, но не наоборот).

Следует также добавить, что генетическая информация передается от клетки к клетке в результате клеточного деления. При этом происходит удвоение, или *репликация* ДНК материнской клетки с участием специального фермента *ДНК-полимеразы* и ее равномерное распределение и передача в дочерние клетки. Процесс репликации, так же, как и транскрипция, осуществляется по принципу комплементарности, обеспечивая, таким образом, абсолютное копирование генетической информации. Благодаря половым клеткам, которые возникают на ранних стадиях развития организма как особая клеточная линия, в природе происходит постоянная передача генетической информации из поколения в поколение. Конкретные механизмы репликации ДНК и процессы размножения клеток и организмов будут подробно рассмотрены в дальнейшем.

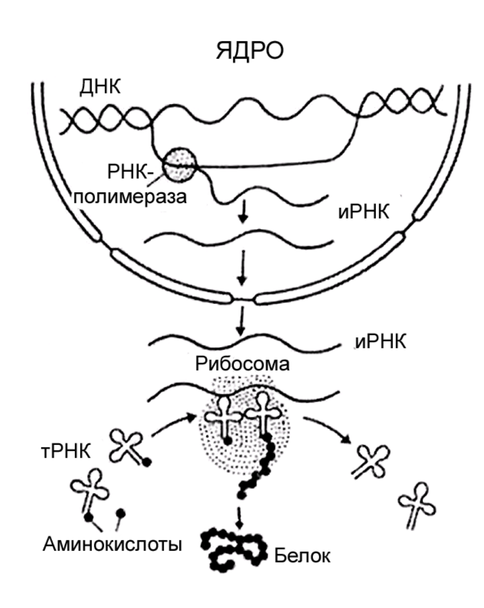


Рис. 25. Общая принципиальная схема реализации генетической информации в эукариотической клетке (по: Ченцов, 2004).

Процессы передачи и реализации наследственной информации определенным образом локализованы в эукариотической клетке. Синтез ДНК (репликация) и РНК (транскрипция) происходит в ядре; синтез же белка (трансляция) осуществляется в цитоплазме после выхода мРНК из ядра через ядерные поры (рис. 25). В прокариотических клетках, как уже отмечалось, нет разделения клеточного объема на компартменты, так как отсутствуют внутренние мембраны, поэтому процессы транскрипции и трансляции протекают «бок о бок».

2.2. Структурная организация генетического аппарата клетки

2.2.1. Общая характеристика генетического аппарата

Теперь, когда мы ознакомились с основными принципами хранения и передачи генетической информации, рассмотрим вопросы, связанные с организацией генетического аппарата в клетках.

Генетический материал может быть представлен разным количеством молекул ДНК – от одной до нескольких десятков или даже сотен. При этом каждая молекула ДНК, связываясь со специальными компактизующими белками, образует особые внутриклеточные структуры – *хромосомы*. Именно в составе хромосом ДНК наследуется и передается от клетки к клетке. Вся ДНК, входящая в состав одинарного, или *гаплоидного*, набора хромосом данного биологического вида, составляет его *геном*. Размер генома сильно варьирует у разных организмов, в целом увеличиваясь в ходе прогрессивной эволюции. Так, размер генома у вирусов составляет примерно 0,000001—0,000030 пикограмма (1 пкг = 10^{-12} г), у бактерий 0,001—0,008 пкг, у дрожжей 0,02—0,04 пкг, у беспозвоночных животных 0,1—12,0 пкг, у позвоночных животных 0,8—280,0 пкг, у высших растений 0,4—180,0 пкг. Такая динамика действительно коррелирует с постепенным увеличением числа генов в ходе исторического развития жизни на Земле. Однако в составе хромосом эукариотической клетки лишь небольшая часть ДНК задействована в качестве настоящих генов, т.е. смысловых участков, содержащих информацию о белках; бо́льшая же часть ДНК представляет собой бессмысленные повторы нуклеотидов. Такая «бессмысленная»

некодирующая ДНК получила название *избыточной* ДНК. Она представлена в основном так называемой *сателлитной* ДНК (*сатДНК*), функции которой до конца неизвестны. Предполагают, что сатДНК может выполнять скелетную, защитную (буферную) и иные функции. Также к избыточной ДНК относят так называемые *подвижные генетические элементы*, или *транспозоны*, которые способны размножаться и перемещаться внутри генома, подобно вирусам, выполняя функцию частичной репарации (восстановления) повреждающихся участков ДНК. Окончательно роль транспозонов, как и других некодирующих элементов в составе генома эукариот, еще только предстоит выяснить.

В про- и эукариотических клетках генетический аппарат имеет разную степень структурной сложности; в основном это обусловлено разницей в размерах этих клеток и количестве генов. Размер прокариотической клетки – около 1 мкм (1 мкм, *микрометр*, или *микрон*, = 10^{-6}м = 10^{-3}мм). Генетический аппарат бактерий представлен одной кольцевой молекулой ДНК, которая с помощью белков упакована в небольшое центральное тело – *нуклеоид*, расположенное прямо в цитоплазме (за неимением оформленного ядра) (рис. 26). Помимо этого, часть генетического материала находится в *плазмидах* – маленьких замкнутых молекулах ДНК, разбросанных в цитоплазме независимо от нуклеоида. Информация, содержащаяся в плазмидах, в основном используется в процессах адаптации бактерий к меняющимся условиям среды и является дополнительной. Всего генетический материал прокариотной клетки состоит из 500 – 1000 генов (около 1-2 мм ДНК).

Размер эукариотических клеток на порядок больше. Объем генетического материала в одном геноме возрастает до 10 – 30 тыс. генов. Один геном человека (примерно 30 000 генов) содержит ДНК длиной около метра ($3·10^9$ нуклеотидных пар); соответственно, в обычной диплоидной клетке умещается до 2 м ДНК. Записанный в виде линейной последовательности, один самый маленький ген человека занял бы четверть страницы текста, а записанная в таком виде ДНК всей клетки человека представляла бы собой книгу в 500 000 страниц! Такая огромная протяженность всей ДНК эукариотической клетки подразумевает ее хранение в составе более чем одной хромосомы. Число хромосом, как и размер генома, – это видоспецифический признак, оно постоянно для особей одного вида.

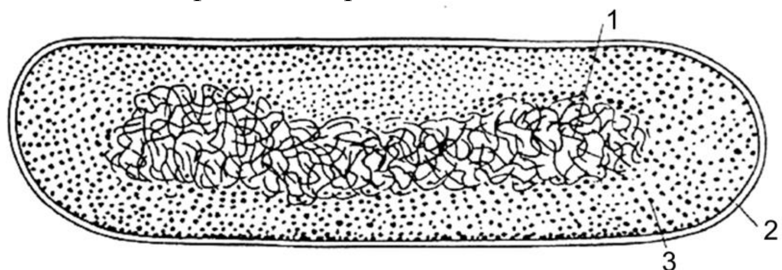


Рис. 26. Бактериальный нуклеоид на срезе клетки *Propionibacterium shermanii* (по: Ченцов, 2004).
1 – нуклеоид; 2 – плазматическая мембрана; 3 – рибосомы.

Основной генетический материал эукариот (за исключением ДНК митохондрий и пластид) сосредоточен в специальном компартменте – *клеточном ядре* (рис. 27). Ядро – это достаточно сложно организованная структура, в составе которой можно выделить следующие компоненты:

1) *хроматин* (хромосомы);
2) *ядрышко*;
3) *ядерная оболочка*;
4) *ядерный сок (нуклеоплазма,* или *кариоплазма)*;
5) *ядерный матрикс* (белковый скелет ядра).

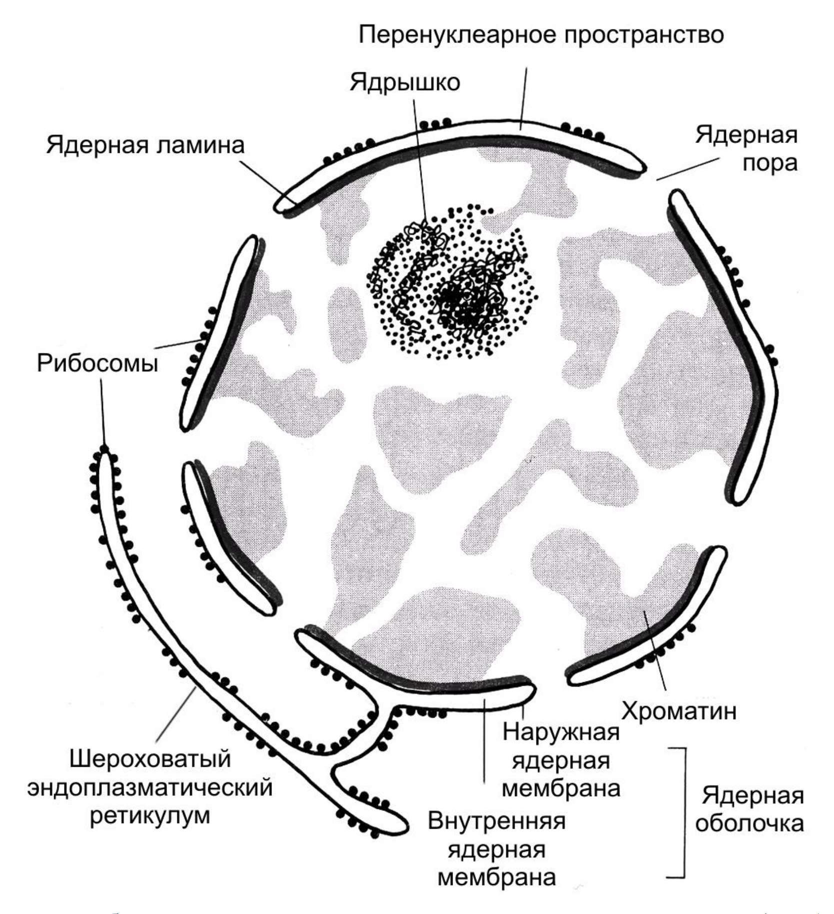


Рис. 27. Схематическое изображение поперечного среза типичного клеточного ядра (по: Албертс и др., 1994).

2.2.2. Хроматин и хромосомы

Хроматин – это материал, представляющий развернутое (рабочее) состояние хромосом в ядрах неделящихся (интерфазных) клеток. Хроматин может равномерно заполнять объём ядра, но некоторая его часть располагается отдельными сгустками – *хромоцентрами*. Для ряда объектов характерна организация хроматина в форме толстых жгутов – *хромонем* (рис. 28). Нередко сгустки хроматина особенно чётко обнаруживаются на периферии ядра (пристеночный хроматин).

В химическом смысле хроматин представляет собой комплекс ДНК с ядерными белками, или *дезоксирибонуклеопротеидный* (ДНП) комплекс. В среднем около 40% массы хроматина приходится на ДНК и около 60% – на белки, хотя это соотношение может изменяться в зависимости от активности клеток. Важным результатом взаимодействия ДНК с белками в составе хроматина является ее компактизация. Еще раз напомним, что суммарная длина ДНК, заключенной в ядре человеческой клетки, приближается к 2 м, тогда как средний диаметр ядра составляет около 10 мкм. Длина молекулы ДНК, заключенной в одной хромосоме человека, в среднем равняется 4 см. В то же время длина соответствующей метафазной хромосомы (при максимальной степени компактизации в момент деления) составляет примерно 4 мкм. Следовательно, ДНК метафазных хромосом компактизована по длине, по крайней мере, в 10^4 раз. В интерфазном хроматине степень компактизации ДНК значительно ниже и неравномерна в отдельных генетических районах, или *локусах*. Это хорошо заметно под микроскопом при окрашивании клеток специальными красителями – их ядра содержат хорошо прокрашенные сгустки хроматина, разделённые зрительно незаполненными хроматином участками (см. рис. 28). На самом деле эти светлые, якобы пустые, участки ядра также содержат генетический материал, только в виде максимально разрыхленного, декомпактизированного хроматина, нити которого слишком тонки, чтобы быть различимыми в световой микроскоп. Таким образом, в интерфазном ядре можно выделить две фракции хроматина, различающиеся в структурном и функциональном

отношениях. Рыхлое состояние хроматина в виде раскрученных нитей ДНП, максимально освобожденных от компактизующих белков, является единственно возможным для осуществления процессов транскрипции и репликации. Такой активированный хроматин, доступный для считывания информации, получил определение *эухроматина*. В состоянии эухроматина в ядре содержатся именно те гены, активность которых необходима данному типу клеток в данный момент. Весь остальной объем генетического материала (а его большинство) пребывает в клетке в неактивном состоянии, не работает и заблокирован с помощью компактизующих белков. Хроматин, находящийся в таком конденсированном нерабочем состоянии, называется *гетерохроматином.* Выделяют две разновидности гетерохроматина – *факультативный* («необязательный») и *конститутивный* («обязательный»). В состоянии факультативного гетерохроматина могут находиться смысловые последовательности, т.е. гены, которые «молчат» временно, например, за ненадобностью в данный момент или в данном типе клеток. Такие «молчащие» гены потенциально могут деконденсироваться и начать транскрибироваться. Конститутивный же гетерохроматин – это та существенная доля ДНК, которая в принципе неактивна в генетическом отношении (не кодируют белки) и не переводится в состояние эухроматина ни при каких обстоятельствах. Речь идет о той самой сателлитной ДНК, которая составляет большую часть «бессмысленной», избыточной ДНК генома эукариот, о чем уже упоминалось выше. Напомним, что сателлитной ДНК приписывают, в частности, структурную функцию – считается, что она способствует закреплению хромосом на скелетных структурах ядра.

По состоянию хроматина, по соотношению в нем разных фракций, можно судить о функциональной активности клеток. Было замечено, что в интенсивно размножающихся, активно синтезирующих белок, а также в малоспециализированных клетках ядра имеют преимущественно диффузную структуру – в них заметны только узкий пристеночный ободок конденсированного хроматина и небольшое число мелких хромоцентров, основная же часть хроматина деконденсированна и представлена эухроматином (рис. 28, Б).

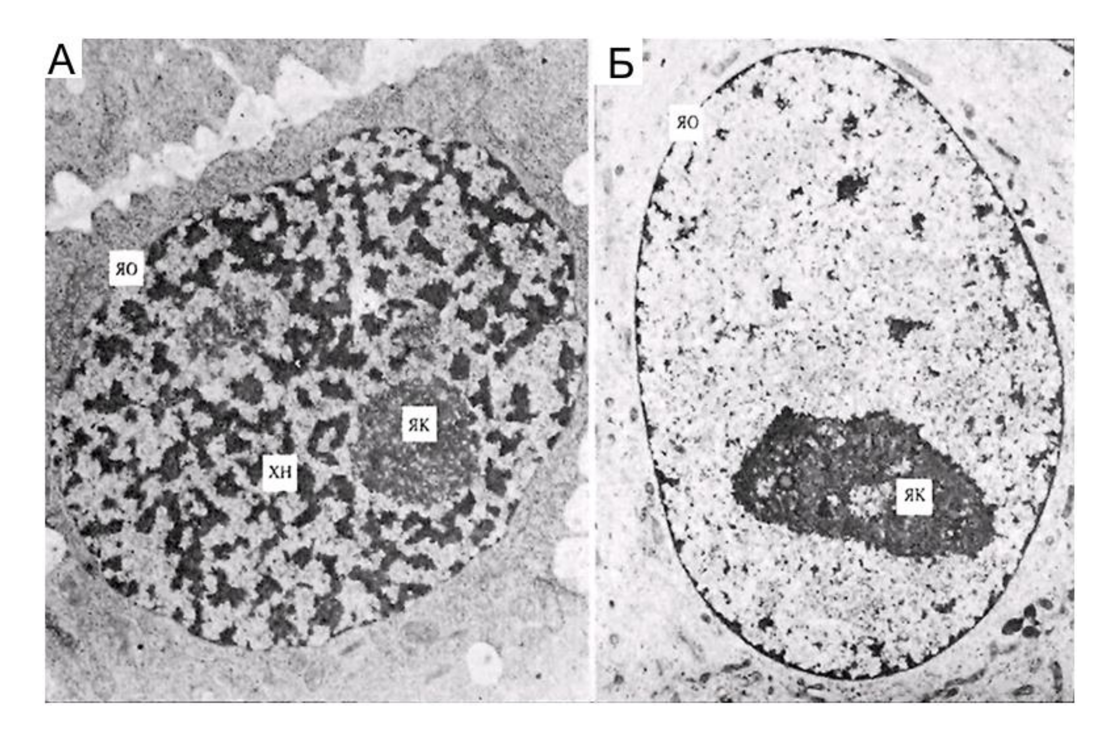


Рис. 28. Ультраструктура интерфазных (неделящихся) ядер под трансмиссионным электронным микроскопом (по: Ченцов, 2004). А – ядро хромонемного типа (корешок проростка лука); Б – ядро диффузного типа со сгустками хроматина – хромоцентрами (клетка культуры ткани почек). ЯК – ядрышко; ЯО – ядерная оболочка; ХН – хромонема.

В высокоспециализированных клетках, в стареющих клетках, заканчивающих свой жизненный цикл, и в клетках с низким уровнем синтеза белка хроматин присутствует в виде более массивного периферического слоя и (или) крупных хромоцентров – блоков конденсированного гетерохроматина. Максимально конденсирован хроматин во время митотического деления клеток, когда он обнаруживается в виде хромосом – плотных удлиненных телец разной длины и формы. В этот период хромосомы не несут никаких синтетических нагрузок и предназначены только для равномерного распределения содержащегося в них генетического материала в дочерние клетки.

Конденсация (компактизация) хроматина осуществляется в несколько этапов. В соответствии с этим выделяют несколько структурных уровней компактизации хроматина. «Голую» нить ДНК, свободную от белков, условно назовем «нулевым» уровнем компактизации – толщина нити составляет 2 нм (1 нм, *нанометр* = 10^{-9} м = 10^{-6} мм = 10^{-3} мкм).

Первый уровень компактизации хроматина называется *нуклеосомной фибриллой,* или *«бусины на нитке»*. Основная роль в упаковке ДНК на нуклеосомном уровне принадлежит глобулярным щелочным белкам *гистонам* (именно благодаря щелочной реакции гистоны связывают и блокируют кислый субстрат, который представляет собой ДНК). Выделяют несколько фракций гистонов: Н1, Н2А, Н2В, Н3 и Н4. При формировании нуклеосомной фибриллы гистоны Н2А, Н2В, Н3 и Н4, взятые каждый по паре, образуют комплексы по 8 штук – *октамеры*. Вокруг каждого такого октамера нить ДНК совершает 1,75 оборота. Октамер с намотанным на него фрагментом ДНК образует комплекс в виде бусины – *нуклеосому*. Нуклеосомы связаны между собой свободными участками ДНК – *линкерами* (от англ. *link* – связывать). Таким образом, образуется фибрилла толщиной 10 нм, длина которой по сравнению с протяженностью исходной «голой» молекулы ДНК уменьшается в 7 раз (рис. 29).

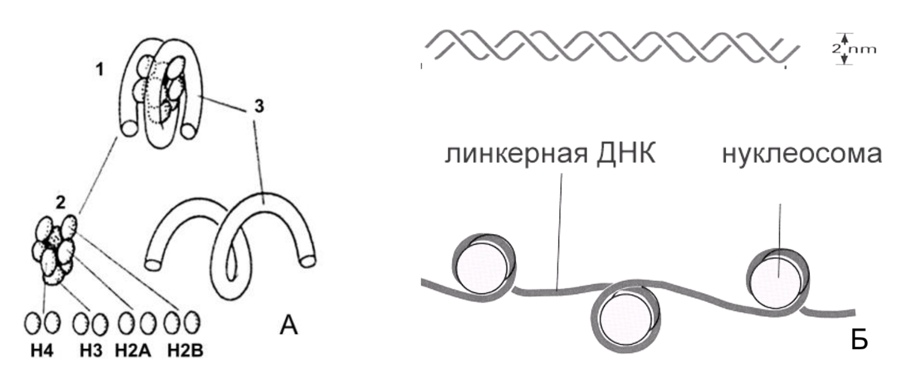


Рис. 29. А – схема строения нуклеосомной частицы (1). В состав её входят 4 пары гистонов в октамере (2) и фрагмент ДНК длинной 146 пар оснований (3) (по: Ченцов, 2004). Б – двойная спираль ДНК без гистонов и на первом уровне компактизации (по: Албертс и др., 1994).

Второй уровень компактизации хроматина получил название *нуклеомерной фибриллы*. Ещё один гистоновый белок – Н1, не задействованный в создании первого уровня компактизации, связывается с линкерными участками ДНК и сближает нуклеосомы между собой, после чего вся нуклеосомная фибрилла еще раз спирализуется: витки спирали также удерживаются гистоном Н1. Получается фибрилла толщиной 30 нм, устроенная либо по типу соленоида (рис. 30, а), либо по типу более крупных «бусин» (*супербусин*, или *нуклеомеров*) на более толстой «нитке» (рис. 30, б). Соответственно, выделяют два типа укладки 30-нанометровой фибриллы – соленоидный и нуклеомерный. Независимо от типа укладки, общее укорочение нуклеопротеидной фибриллы (по сравнению с исходной нитью ДНК) на втором уровне компактизации хроматина составляет 40—70 крат. Это последний уровень компактизации, осуществляемый с помощью гистонов. Далее в процессе компактизации участвуют так называемые *негистоновые* белки.

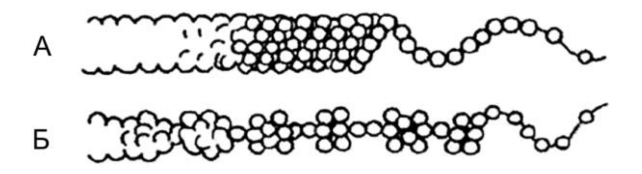


Рис. 30. Схема строения 30-нанометровой хроматиновой фибриллы. А – соленоидный тип; Б – нуклеомерный тип укладки нуклеосомной фибриллы (по: Ченцов, 2004).

Третий уровень компактизации хроматина можно назвать *петельно-хромомерной фибриллой*, или *хромонемой*. Нуклеомерная фибрилла собирается в петли (*петельные домены*), которые образуют розетки – *хромомеры*. Размер отдельных петель соответствует одному или нескольким генам. Основания петель содержат определенные последовательности нуклеотидов, которые специфически взаимодействуют с негистоновыми белками ядерного матрикса (скелета) – *матриксинами*. Участки ДНК петель, связывающиеся с ядерным матриксом, получили название *MAR* (matrix attachment region), или *SAR* (scaffold attachment region) и часто обозначаются как MAR/SAR-последовательности. В дальнейшем, обычно при подготовке к митозу, хромомеры максимально компактизуются, сближаются и образуют плотный удлинённый нуклеопротеидный тяж – *хромонему*. При этом хромомеры выявляются по всей длине хромонемы в виде утолщений (рис. 31). Укладка нуклеомерной фибриллы в хромонему позволяет достичь 600—700-кратного укорочения фибриллы по сравнению с «голой» ДНК.

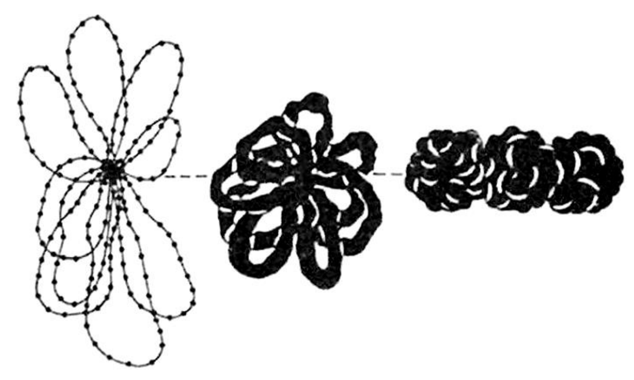


Рис. 31. Хромонема с хромомерами разной степени компактизации (по: Ченцов, 2004).

Понятно, что компактизованный хромомер транскрипционно неактивен, поскольку заключенная в нем ДНК многократно блокирована с помощью белков. Если необходимо активировать ген или группу генов, соответствующий хромомер «сбрасывает» с себя компактизующие белки ядерного матрикса и выпускает петли в виде нуклеомерной фибриллы, которая затем разворачивается до нуклеосомной фибриллы, а в контакте с ферментами РНК-полимеразами – до «голой» ДНК. Так факультативный гетерохроматин переходит в состояние эухроматина, и запускается транскрипция нужного гена. Таким образом, типичная хромонема интерфазного ядра представляет собой нить толщиной около 300 нм, по ходу которой чередуются неактивные хромомеры в виде плотных узелков и активные хромомеры, содержащие развернутые петельные домены, на которых происходит синтез РНК. Неактивные хромомеры вместе с сателлитной ДНК – гетерохроматин – образуют плотные участки интерфазного ядра, а петельные домены активных хромомеров – эухроматин – соответствуют «разреженным» пространствам между ними (см. рис. 27 и 28).

Четвертый уровень компактизации хроматина – *хроматидный,* или *хромосомный* – образуется в период митотического деления клетки. При этом хромонема спирализуется с образованием удлинённых оптически плотных телец – *хроматид*. Следует помнить, что

перед делением ДНК удваивается (это происходит задолго до начала формирования четвертого уровня компактизации), а это значит, что каждая интерфазная хромосома после удвоения будет состоять не из одной, а из двух хромонем, которые затем, уже при переходе к митозу, конденсируются до уровня хроматид. Хромосома, состоящая из двух максимально компактизованных хроматид, окончательно формируется к моменту метафазы (вторая стадия митоза, см. ниже) и поэтому называется *метафазной хромосомой* (рис. 32).

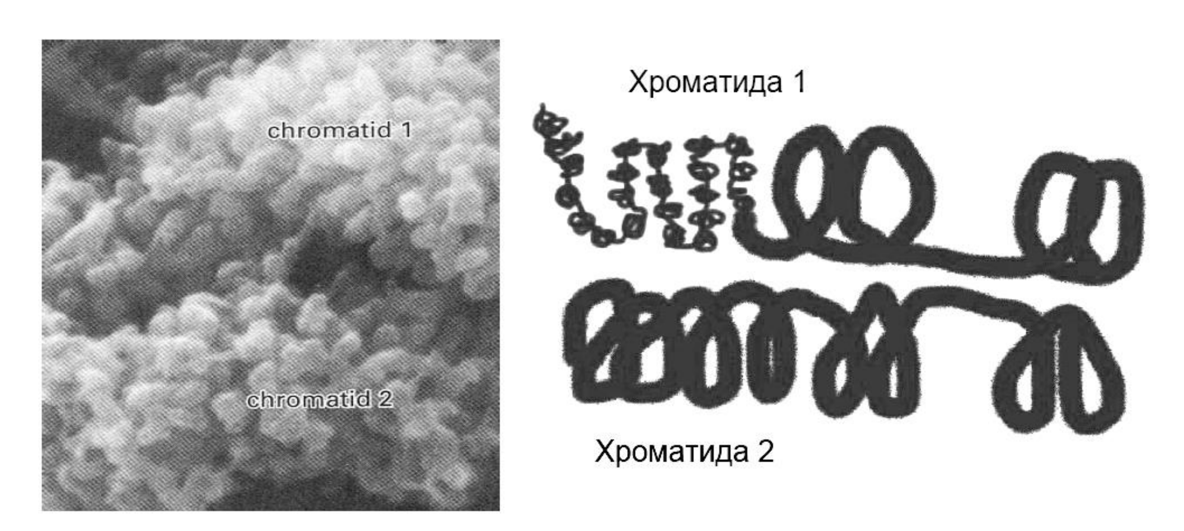


Рис. 32. 4-й уровень компактизации хроматина. Электронограмма части хромосомы (фотография, полученная при помощи сканирующего электронного микроскопа) и схематичное изображение целой хромосомы, состоящей из двух хроматид (по: Албертс и др., 1994).

Схематичное изображение метафазной хромосомы приведено на рис. 33. Две хроматиды метафазной хромосомы называют *сестринскими*, они абсолютно идентичны друг другу как по форме, так и по содержанию, поскольку репликация ДНК осуществлялась по принципу комплементарности. Типичная метафазная хромосома имеет *первичную перетяжку*, или *центромеру*, состоящую из конститутивного гетерохроматина. Именно в этих точках две сестринские хроматиды соединены в целую бихроматидную хромосому. Центромера делит хромосому в целом и каждую хроматиду в отдельности на *плечи*; в зависимости от положения центромеры на хромосоме, соотношение длин плеч может быть разным. Хромосомы, у которых «верхние» плечи примерно равны по длине «нижним», называют *метацентрическими* (*метацентрики*). Если одно плечо заметно короче другого (перетяжка смещена от центра вдоль оси хрмосомы), такие хромосомы называются *субметацентрическими* (*субметацентрики*). Если смещение очень значительно, так что «верхние» и «нижние» плечи резко различаются по длине, говорят о *субтелоцентрических* хромосомах (*субтелоцентрики*). Наконец, бывают случаи, когда центромера смещается в крайнее положение, и плечи вообще не образуются, а хромосома выглядит в виде арки – такие хромосомы называют *телоцентрическими*, или *акроцентрическими* (*телоцентрики*, или *акроцентрики*). У некоторых организмов на плечах хромосом имеются *вторичные перетяжки*. Концы хромосом (вершины плеч) называют *теломерами*, они состоят из особой *теломерной ДНК*, находящейся в состоянии конститутивного гетерохроматина. Эти участки содержат бессмысленные повторы и защищают концевые информативные районы хромосом от укорачивания, которое имеет место после каждого цикла репликации ДНК. Таким образом, неизбежное укорочение хромосом происходит за счет теломерной ДНК, протяженности которой с запасом хватает на все время жизни организма, и не затрагивает смысловые последовательности, т.е. гены.

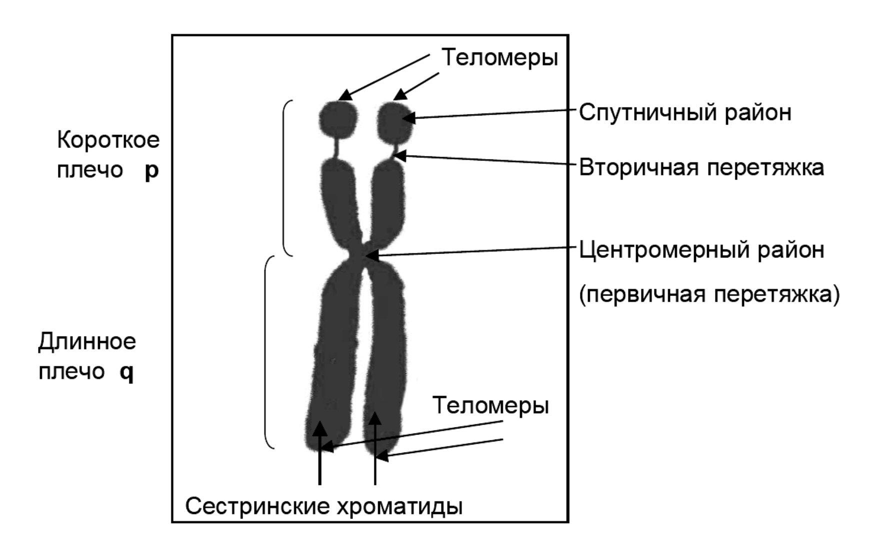


Рис. 33. Схематичное изображение хромосомы (по: Албертс и др., 1994). Концевые участки хроматид – теломеры, а также центральный участок, в котором 2 хроматиды скрепляются вместе – центромера состоят из конститутивного гетерохроматина. За центромерные участки хроматиды растаскиваются по дочерним клеткам во время деления материнской клетки.

Суммарная характеристика числа, величины и морфологии хромосом называется *кариотипом* данного биологического вида. Даже у близких видов хромосомные наборы могут отличаться или по числу хромосом, или по величине и по структуре хотя бы одной из нескольких хромосом. Структура кариотипа уникальна для каждого вида и является важным систематическим признаком (рис. 34 и 35). Часто виды-близнецы оказываются отличными друг от друга только по строению кариотипа. В случае скрещивания таких видов даже небольшие различия в хромосомном наборе ведут к неправильному перераспределению хромосом при последующем делении клеток дочернего организма, и потомство оказывается нежизнеспособным. Кариотипы исследует наука *цитогенетика*.

Эукариотные организмы размножаются половым путём и вследствие этого имеют двойной – *диплоидный* – набор хромосом (2n). Одинарный – *гаплоидный* – набор хромосом (1n) содержится только в зрелых половых клетках (*гаметах*), и когда две половые клетки, мужская и женская, сливаются в процессе оплодотворения, происходит объединение двух гаплоидных наборов хромосом в один диплоидный. В результате зигота (одноклеточный зародыш) и все клетки организма, формирующегося путем дробления зиготы, несут уже двойной набор. Только в процессе созревания новых половых клеток происходит обратная редукция диплоидного набора до гаплоидного; такая редукция осуществляется в ходе особого типа клеточного деления, *мейоза*.

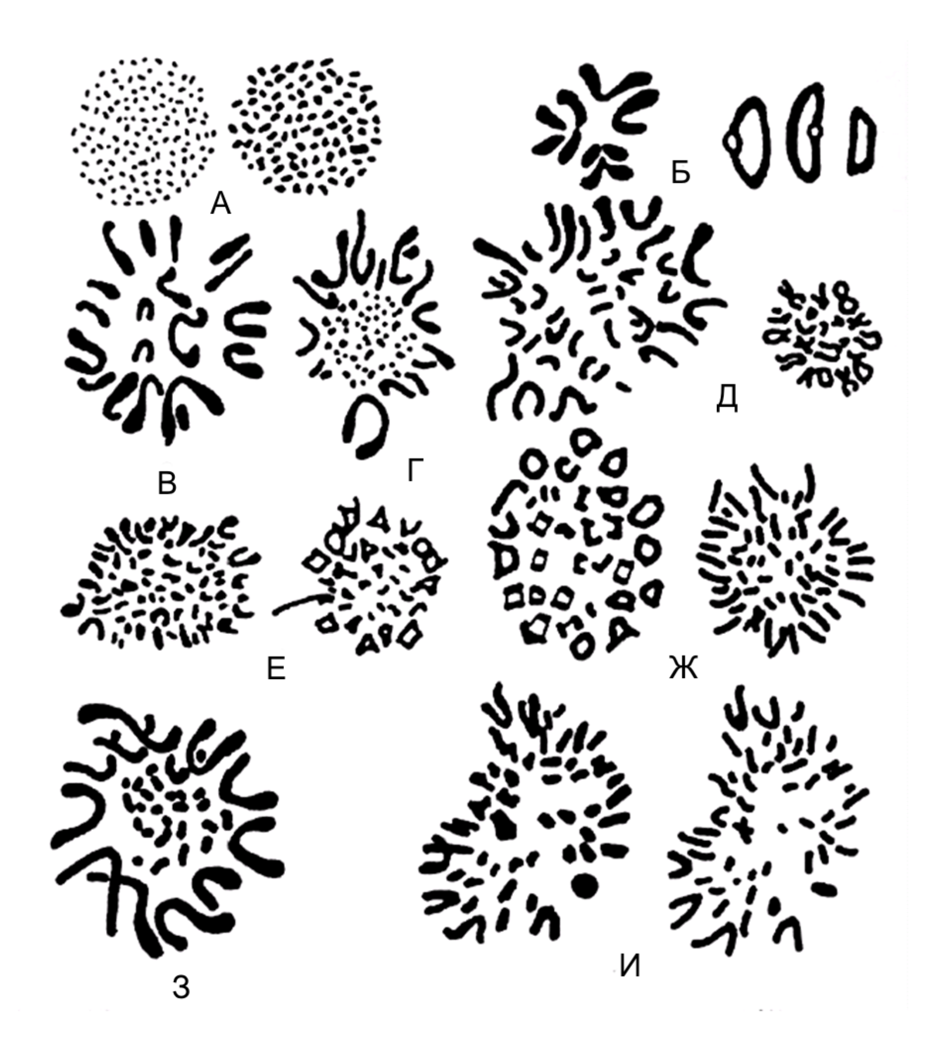


Рис. 34. Хромосомы разных видов животных (по: Ченцов, 2004). А – речной рак (2n=196); Б – комар Culex (2n=6); В – щука (2n=18); Г – курица; Д – кошка (2n=38); Е – лошадь (2n=66); Ж – бык (2n=60); З – саламандра (2n=34); И – овца (2n=54).

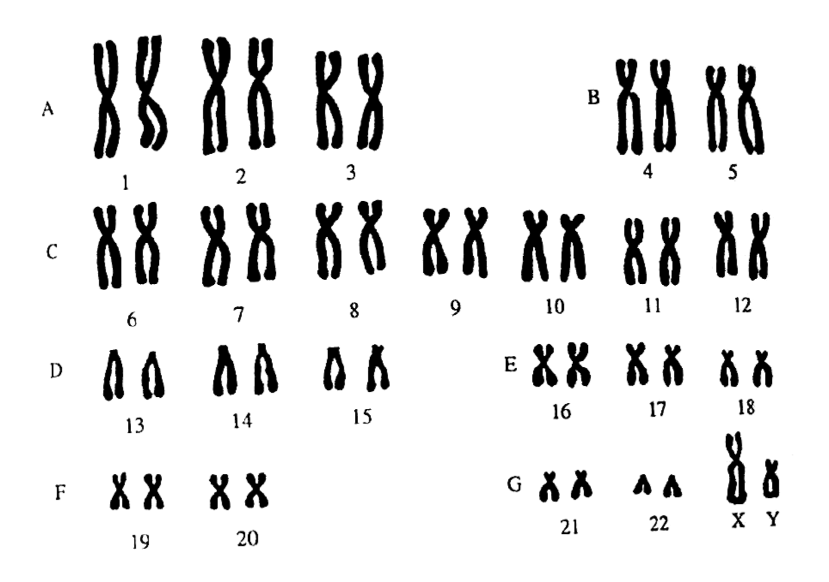


Рис. 35. Кариотип человека (мужчины). Хромосомы обозначены согласно денверовской системе (по: Ченцов, 2004).

Иногда организмы или их отдельные клеточные типы оказываются *полиплоидными* – т.е. несут более двух наборов хромосом. Это происходит в результате различных нарушений мейоза (в случае *организменной полиплоидии*), или митоза (при *соматической полиплоидии*, т.е. полиплоидии отдельных соматических клеток). Нарушения ведут к тому, что после удвоения ДНК не происходит дальнейшего деления самой клетки или ее ядра. Особый случай (например, в некоторых клетках личинки дрозофилы) представляет собой увеличение числа геномов путём *политении*, когда после удвоения ДНК не просто выпадает стадия клеточного деления, но и не происходит расхождения хромосом на отдельные хроматиды, что необходимо для нормального течения митоза. В результате несколько нитей реплицировавшейся ДНК остаются рядом, в составе единой *политенной хромосомы* (рис. 36). Процессы, так или иначе приводящие к появлению клеток с увеличенным числом геномов, лежат в основе явления, называемого *эндорепродукцией*, – это название отображает суть воспроизведения генетической информации внутри одной клетки.

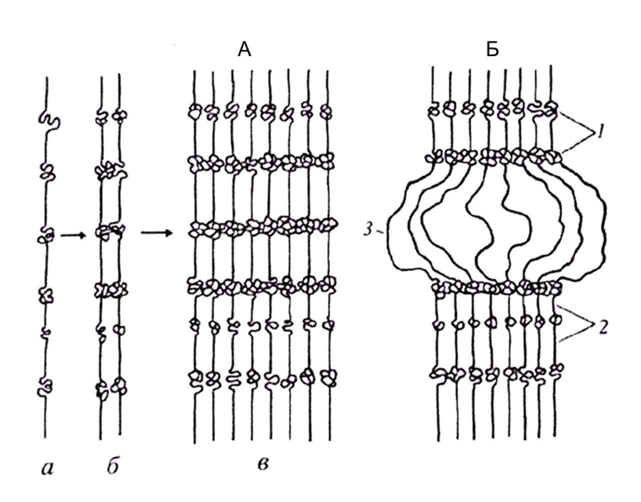


Рис. 36. Схема строения политенной хромосомы (А) и её участков (Б) (по: Ченцов, 2004). а – нить хромосомы с участками конденсированного хроматина; б – две нити после редупликации; в – 8 сближенных нитей в результате троекратной редупликации хромосом; 1 – диски (участки конденсированного хроматина в политенной хромосоме); 2 – междисковые участки; 3 – пуф, образовавшийся за счёт деконденсации хроматина диска, в пуфах находятся транскрибируемые гены.

2.2.3. Ядрышко

В интерфазном ядре, как правило, отчетливо выявляется плотная структура, называемая *ядрышком*. В этой части ядра происходит транскрипция генов, кодирующих рибосомную РНК (*рибосомных генов*, или *р-генов*), созревание, или *процессинг*, рРНК и сборка рибосомных субъединиц из фрагментов рРНК и рибосомных белков. Совокупность рибосомных генов и продуктов их активации, как промежуточных, так и конечных, включая готовые рибосомные субъединицы, и составляет зону повышенной плотности – ядрышко.

Гены рибосомной ДНК группируются в кластеры, называемые *ядрышковыми организаторами* (ЯО), или *ядрышкообразующими районами* (ЯОР), которые располагаются на определенных участках одной или нескольких *ядрышкообразующих хромосом*. Как правило, ЯОРы локализуются в теломерных районах хромосом или в местах, соответствующих вторичным перетяжкам. Число и размеры ЯОРов, как и количество ядрышкообразующих хромосом, является видоспецифическим признаком и одной из важных характеристик кариотипа данного биологического вида. Так, например, в хромосомном наборе человека насчитывается 10 ядрышкообразующих хромосом и, соответственно, 10 ЯОРов, при этом внутри каждого ЯОРа гены организованы в виде большой группы (около 250) тандемно повторяющихся одинаковых последовательностей длиной 44 тысячи пар нуклеотидов каждая.

В интерфазном ядре, когда все хромосомы, включая и ядрышкообразующие, подвергаются частичной декомпактизации, отдельные ядрышковые организаторы часто

сливаются в один или несколько конгломератов и формируют сердцевину ядрышка. В результате активации (экспрессии) генов ядрышковых организаторов вокруг этой сердцевины «наращивается» более или менее обширная периферия, образованная молекулами рРНК, находящимися на разных этапах синтеза и созревания (процессинга), и готовыми рибосомами, ждущими сигнала для оттока в цитоплазму. Число ядрышек в ядре может сильно варьировать в зависимости от функционального состояния клеток, стадии митотического цикла и других обстоятельств.

Морфологически в ядрышке различают три основные зоны: *фибриллярный центр* (или несколько центров), окруженный *плотным фибриллярным* и *гранулярным компонентами* (рис. 37). Установлено, что в фибриллярном центре (ФЦ) ядрышка локализованы сами рибосомные гены, а также белки, необходимые для их транскрипции и созревания. Считается, что транскрипция генов рРНК происходит на периферии фибриллярного центра, то есть на границе его с плотным фибриллярным компонентом (ПФК). Таким образом, сам плотный фибриллярный компонент представлен массой растущих и созревающих цепей рРНК и ассоциированными с ними белками. Гранулярный компонент (ГК) образован большим количеством готовых рибосомных субчастиц. Кроме того, в составе ядрышка, как правило, имеются глыбки конститутивного гетерохроматина (так называемый *околоядрышковый гетерохроматин*), с помощью которого ядрышко прикрепляется к ядерной оболочке или к элементам ядерного скелета (рис. 37). Помимо чисто структурной функции, некоторые исследователи отводят околоядрышковому гетерохроматину и регуляторную роль.

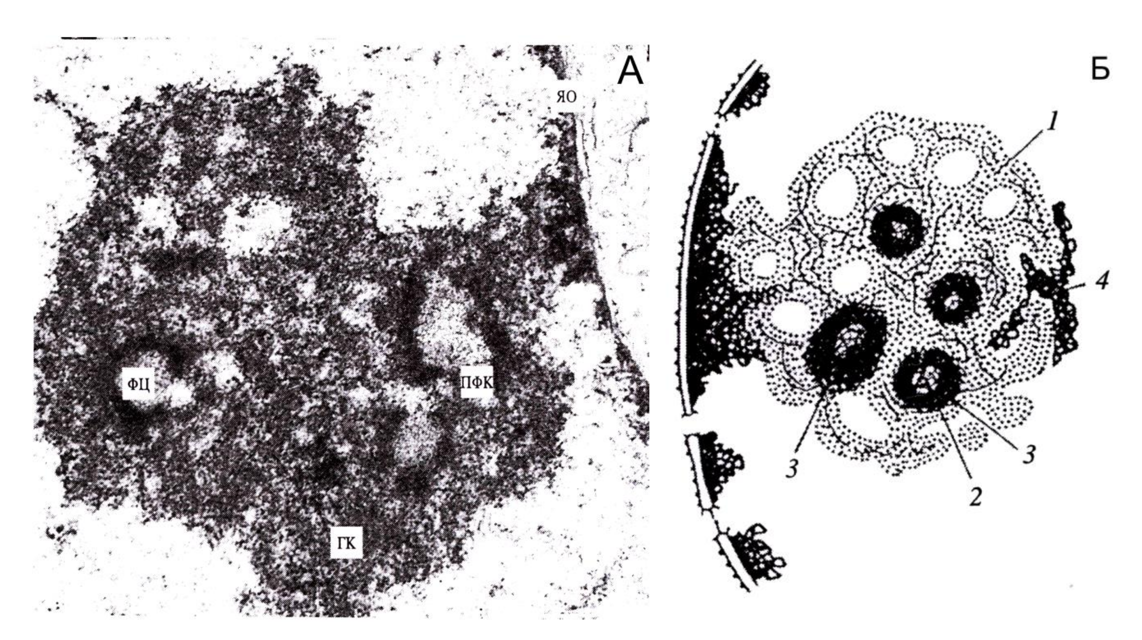


Рис. 37. Ультраструктура ядрышка. А – электоронная микроскопия; Б – схема. ФЦ – фибриллярный центр, ПФК – плотный фибриллярный компонент, ГК – гранулярный компонент; 1 – гранулярный компонент, 2 – фибриллярный центр, 3 – плотный фибриллярный компонент (по: Ченцов, 2004).

Если учесть хромонемную организацию хроматина в интерфазном ядре (третий уровень компактизации), то каждый ядрышковый организатор можно представить в виде отдельного хромомера (см. раздел 2.2.2). При этом сердцевина хромомера будет соответствовать зонам ФЦ, а активные петли, покрытые «елочками» растущих транскриптов, и плотная масса созревающих рРНК – зонами ПФК. Следует отметить, что для хроматина рибосомных генов характерна несколько иная структурная организация: гистоны заменены здесь другой группой белков, в связи с чем нуклеосомы не образуются, и р-гены постоянно находятся в декомпактизованном состоянии, что облегчает их активацию в случае срочной необходимости.

Не все рибосомные гены одинаково активны в функциональном отношении: в норме транскрибируется лишь часть последовательностей рДНК. Благодаря безнуклеосомной организации ядрышкового хроматина возможна быстрая мобилизация «молчащих» р-генов в пределах каждого отдельного ядрышка и вовлечение их в синтез рибосом. За счет этого размер и плотность ядрышка может постоянно меняться. Также может варьировать и число ядрышек, за счет активации «запасных», резервных ЯОРов, которые в обычных условиях не работают и не формируют вокруг себя фибриллярного и гранулярного компонентов. Таким образом, структура ядрышкового аппарата клетки является высоко динамичной, а его пространственная локализация и морфологические особенности зависят от уровня активности соответствующих генов рДНК и отражают текущую потребность клетки в биогенезе рибосом.

2.2.4. Ядерная оболочка

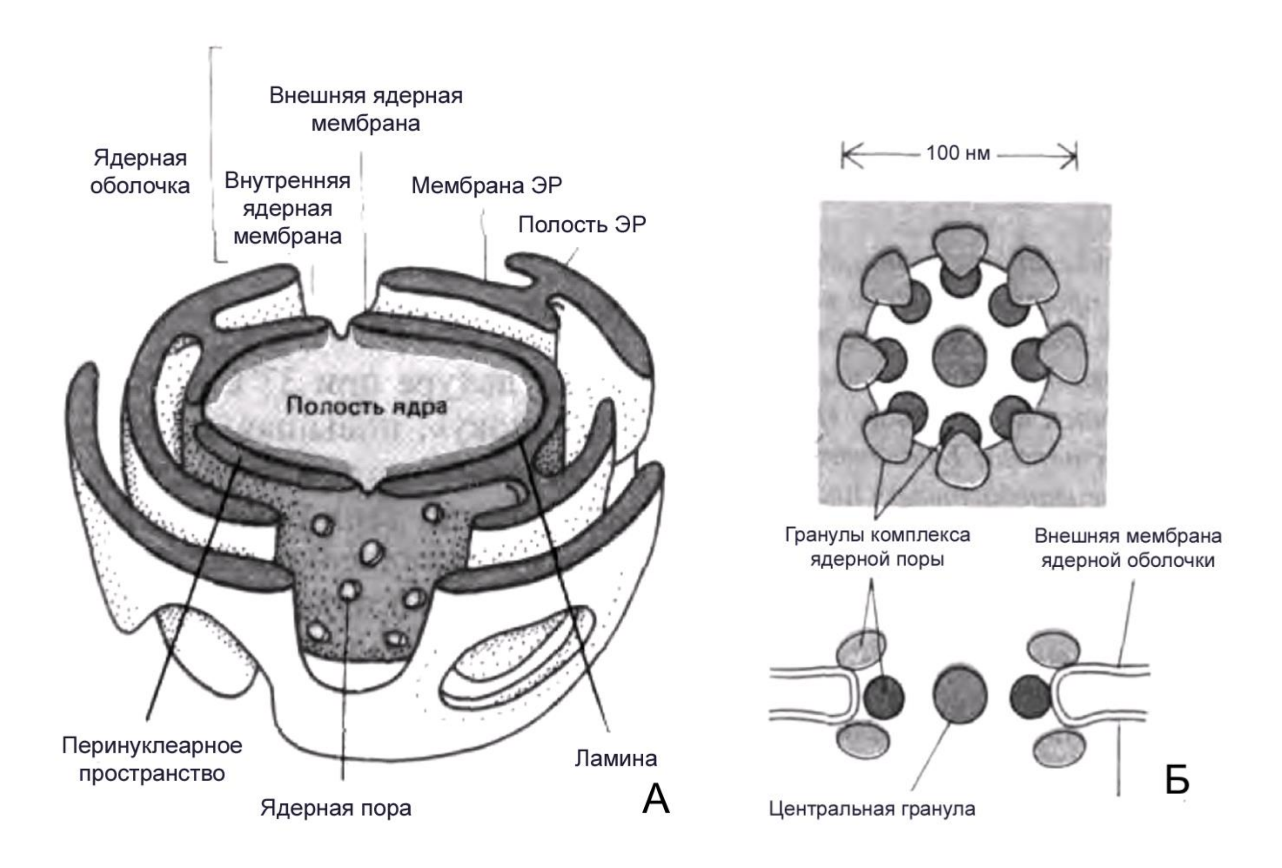
Оболочка ядра образована двумя мембранами. Выделяют *внутреннюю ядерную мембрану*, обращенную к полости ядра, и *наружную ядерную мембрану*, обращенную к цитоплазме. Наружная мембрана переходит непосредственно в мембрану *эндоплазматической сети*, или *эндоплазматического ретикулума* (*ЭПС*, или *ЭПР*, или *ЭР*). Между внутренней и наружной мембранами образуется узкое пространство, названное *перинуклеарным* (рис. 38, А), которое, соответственно, сообщается с полостью каналов и цистерн эндоплазматического ретикулума.

С внутренней стороны ядерная оболочка (ее внутренняя мембрана) подстилается плотной пластиной – *ламиной*, которая поддерживает ядерную мембрану и контактирует с хромосомами. Ламина является компонентом ядерного скелета, или ядерного матрикса, она образована специальными белками *ламинами*. У высших эукариот в состав плотной пластинки входят ламины трех типов – А, В и С, которые весьма незначительно отличаются друг от друга по аминокислотной последовательности, то есть характеризуются высоким процентом гомологии. Степень развития плотной пластины может варьировать в широких пределах: от едва заметной (20—80 нм) субмембранной сети до мощного (250—300 нм) сотового слоя ядра у некоторых простейших.

Ядерная оболочка имеет многочисленные *поровые комплексы* для сообщения с цитоплазмой и транспорта веществ, в том числе для переноса из ядра в цитоплазму молекул мРНК в связке со специальными белками. *Ядерная пора* представляет собой комплекс из 17 белков, где центральная белковая глобула играет роль канала, а остальные 16 образуют два кольца по 8 глобул в каждом, прикрепленные к наружной и внутренней ядерной мембране соответственно и фиксирующие, таким образом, центральную глобулу в центре поры (рис. 38). Все макромолекулы, проходящие через ядерные поры, имеют в своём составе особую полипептидную (аминокислотную) последовательность, получившую название *сигнал ядерного импорта* и предназначенную для распознавания порой транспортируемого вещества. После преодоления ядерной поры эта сигнальная последовательность отсоединяется от макромолекулы.

2.2.5. Ядерный сок, или кариоплазма

Полость ядра заполнена ядерным соком, называемым также *нуклеоплазмой* (от лат. *nucleus* – ядро) или *кариоплазмой* (от греч. *karyon* – ядро). Кариоплазма представляет собой бесструктурную жидкую фазу с растворенными в ней минеральными солями и органическими веществами, то есть, аналогична по своему содержанию *гиалоплазме* клетки (жидкая фракция цитоплазмы, которая остается, если удалить все органоиды и другие внутриклеточные структуры). Она создает специфическое для ядерных структур микроокружение, что обеспечивает возможность их нормального функционирования. Через систему поровых комплексов ядерной оболочки кариоплазма постоянно взаимодействует с гиалоплазмой. Важной составляющей ядерного сока являются свободные нуклеотиды, необходимые для построения нуклеиновых кислот.



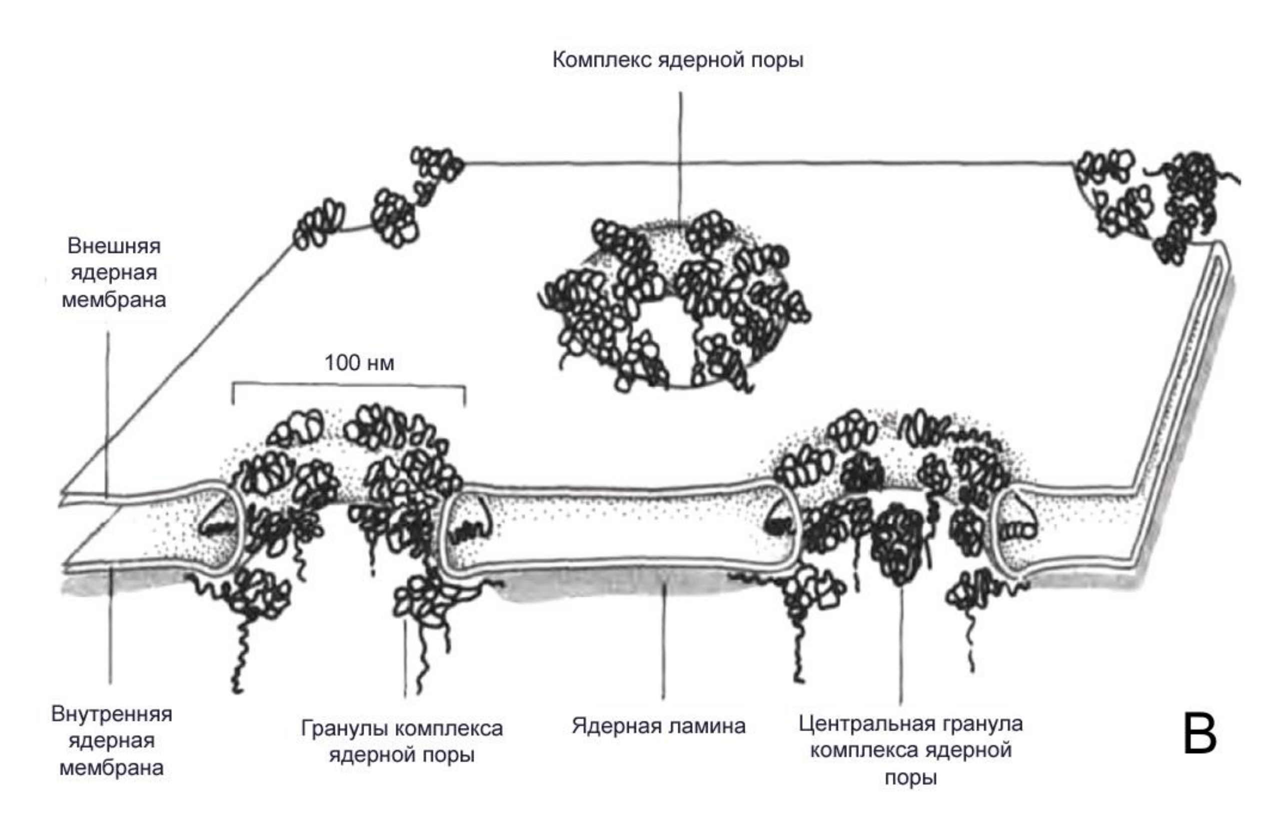


Рис. 38. Строение ядерной оболочки. А. Трёхмерная модель оболочки в окружении цистерн эндоплазматического ретикулума. Б. Вид сверху и поперечное сечение по центру поры. В. Схема небольшого участка ядерной оболочки (по: Албертс и др., 1994).

2.2.6. Ядерный матрикс

Для поддержания пространственной структуры ядра существует особая система, называемая *ядерным скелетом*, или *ядерным матриксом*. Ядерный матрикс включает в себя ламину, подстилающую ядерную мембрану изнутри, и систему белковых нитей, пронизывающих ядро и формирующих в его пространстве разветвленную сеть. Как правило, такие нити одним концом крепятся к ламине (с помощью других специальных белков), а другим концом связываются с определенными участками хромосом. Таким образом, матрикс создает некий каркас, объединяющий и структурирующий в пространстве все ядерные компоненты: хроматин, ядрышко, ядерную оболочку. Необходимость в упорядоченности содержимого ядра проистекает из-за огромного объема генетического материала, присутствующего в эукариотической клетке, и вытекающей отсюда сложности регуляции работы большого числа генов. Так, ядро соматической клетки человека содержит 46 хромосом и около 60 тысяч генов; при этом вся ДНК в одной человеческой клетке состоит из 7 миллиардов пар нуклеотидов. Можно себе представить, насколько точно должно осуществляться позиционирование хромосом в ядре, их укладка, компактизация и декомпактизация, чтобы в любой момент времени, когда клетке понадобится какой-либо специфичный белок, РНК-полимеразная ферментная система могла найти и распознать кодирующий его ген и синтезировать на нём нужное количество копий мРНК.

Ранее (см. 2.2.2) мы уже упоминали, что существуют специальные районы хромосом (последовательности нуклеотидов), отвечающие за прикрепление ДНК к ядерному матриксу (MAR/SAR-последовательности). Одной из основных функций, которую им приписывают в настоящее время, может быть пространственное разграничение функциональных доменов (петель) хроматина в интерфазных ядрах, необходимое для эффективной и независимой работы генов, расположенных в этих доменах. Интересно, что в интерфазном ядре, когда отдельные хромосомы декомпактизованы и потому не видны, развернутые петли ДНК, принадлежащие разным хромосомам, не перемешиваются. В результате интерфазное ядро состоит из тесно расположенных, но независимых *хромосомных территорий* (рис. 39). При этом нити ДНК закрепляются на ядерной оболочке теми своими участками, которые при дальнейшей компактизации хроматина и формировании метафазных хромосом (перед клеточным делением) войдут в состав их центромерных и теломерных районов.

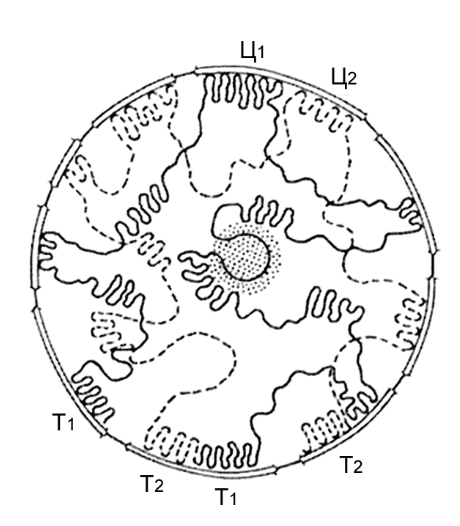


Рис. 39. Схема пространственного расположения двух интерфазных хромосом (по: Ченцов, 2004). Участки хромосом: Т – теломерные, Ц – центромерные.

С фибриллярными структурными белками ядерного матрикса ассоциированы некоторые белки-ферменты: *ДНК-полимераза*, *ДНК-праймаза*, *ДНК-топоизомераза*, *ДНК-лигаза* и другие. Как правило, комплексы ферментов, обслуживающих ДНК, располагаются вблизи участков постоянного прикрепления ДНК к ядерному матриксу или совпадают с

ними. Существует гипотеза, что в ходе репликации петли ДНК перемещаются относительно неподвижных, закреплённых на элементах матрикса *репликационных комплексов*, включающих фермент ДНК-полимеразу. Тот же механизм предполагают и для транскрипции, только уже с участием *транскрипционных комплексов*, в составе которых содержится фермент РНК-полимераза.

2.3. Функционирование генетического аппарата

2.3.1. Репликация ДНК

Репликация, или удвоение, ДНК происходит каждый раз перед делением клетки (за редким исключением). Это необходимое условие для сохранения наследственной информации во всех поколениях клеток и организмов.

Наиболее просто организован процесс репликации у прокариот. Единственная кольцевая хромосома бактерий (нуклеоид) реплицируется как одна структурная единица, при этом удвоение начинается в одной стартовой точке репликации (*точка origin*) и распространяется в обе стороны без перерывов – образуются две *вилки репликации*, «бегущие» по кольцу в разные стороны. Заканчивается репликация в одной *точке терминации* (конечная точка репликации), где в итоге сходятся две репликативные вилки. Таким образом, вся ДНК бактерии представляет собой одну единицу репликации – *репликон* (рис. 40).

У эукариотических клеток ДНК имеет *полирепликонную* организацию, т.е. содержит множество независимых участков репликации, или репликонов (рис. 41). Это существенно ускоряет процесс репликации, хотя и не до абсолютного (теоретически возможного) минимума, т. к. репликация, как правило, начинается не во всех репликонах одновременно. Первым реплицируется эухроматин, последним – конститутивный гетерохроматин центромерных районов хромосом. Существует строгая последовательность репродукции хромосом относительно других хромосом в наборе.

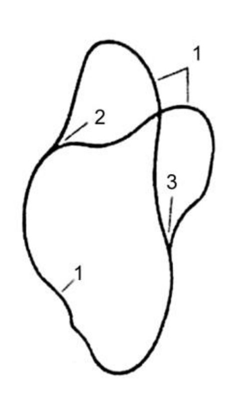


Рис. 40. Репликация бактериальной хромосомы (по: Ченцов, 2004). 1 – исходная ДНК кольцевой хромосомы; 2, 3 – вилки репликации; 4 – вновь синтезированные участки.

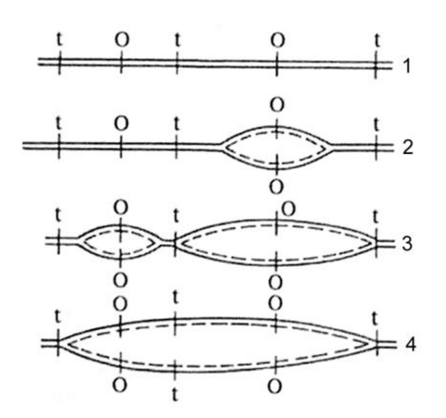


Рис. 41. Репликация эукариотической ДНК (по: Ченцов, 2004). 4 диаграммы представляют последовательные стадии двух смежных единиц репликации (репликонов). Сплошные линии указывают исходные, а пунктирные – новосинтезированные цепи молекулы ДНК. О – начало репликации; t – конец репликации: 1 – перед началом репликации; 2 – репликация началась в правом репликоне; 3 – репликация началась в левом репликоне; 4 – репликация закончилась в обоих репликонах.

Многочисленные ферменты, осуществляющие удвоение ДНК, объединяются в единый репликационный комплекс, под действием которого происходит локальное раскручивание спирали ДНК на две цепи (формирование вилки репликации) и выстраивание свободных нуклеотидов вдоль каждой из цепей по принципу комплементарности. Основным ферментом репликации, как уже говорилось, выступает ДНК-полимераза: она осуществляет

подбор комплементарных нуклеотидов. Кроме ДНК-полимеразы здесь работают такие ферменты, как *ДНК-праймаза* (инициирует репликацию ДНК), *ДНК-топоизомераза* (препятствует локальной суперспирализации ДНК, обеспечивая возможность для посадки ДНК-полимеразы), *ДНК-хеликаза* (разрывает водородные связи между комплементарными нуклеотидами, раскручивая двойную спираль), *ДНК-лигаза* (сшивает отдельные нуклеотидные последовательности, полученные в результате матричного синтеза, в одну цепочку) и другие. В результате скоординированной работы ферментов образуются две дочерние молекулы ДНК, полностью идентичные друг другу и материнской молекуле: если в одной цепи мы имеем некую последовательность из 4-х нуклеотидов, то во второй цепи последовательность нуклеотидов будет однозначно детерминирована, так что каждому *А* в старой цепи будет соответствовать *Т* в новой цепи, каждому *Т* старой цепи – *А* в новой цепи, каждому *Г* старой цепи – *Ц* в новой цепи и каждому *Ц* старой цепи – *Г* в новой цепи (рис. 42). Такой способ удвоения заложен в самой идее существования ДНК в виде двойной спирали, модель которой была предложена Уотсоном и Криком в 1953 году.

При репликации ДНК выполняется также принцип *полуконсервативности*. Это означает, что каждая из двух цепей ДНК используется в качестве матрицы для образования новой комплементарной цепи. В результате дочерняя ДНК содержит одну новую цепь и одну старую, материнскую.

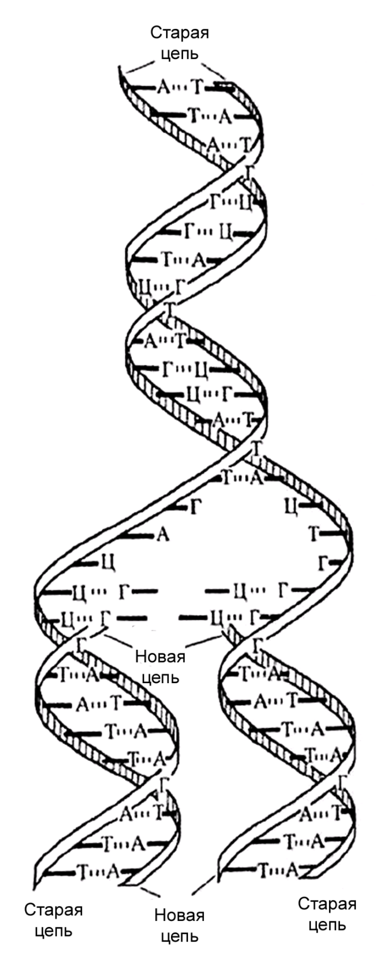


Рис. 42. Схема репликации ДНК (по: Ченцов, 2004).

2.3.2. Синтез РНК, или транскрипция

Как уже упоминалось выше, реализация генетической информации осуществляется через синтез молекул РНК, которые представляют собой рабочие копии отдельных генов. Определённые участки нуклеотидных последовательностей одной из цепей ДНК копируются с образованием соответствующих последовательностей РНК, которые либо кодируют белки (как мРНК), либо образуют «структурную», некодирующую РНК, например молекулы тРНК или рРНК.

Транскрипция осуществляется с помощью фермента *РНК-полимеразы.* Существует несколько разновидностей РНК-полимераз, при этом связывание молекулы фермента строго специфично по отношению к типам РНК. Так, иРНК синтезируется *РНК-полимеразой II*, рРНК – *РНК-полимеразой I*, а тРНК – *РНК-полимеразой III*.

РНК-полимеразы узнают свою последовательность с внешней стороны молекулы ДНК и ассоциируют с ней, не влияя на спаренные основания. Это возможно благодаря тому, что части каждой нуклеотидной пары расположены в 2-х отдельных «бороздках» – большой и малой. В большой бороздке каждая из четырёх пар нуклеотидов однозначно распознаётся по специфическому расположению выступающих атомов. Аминокислоты в связывающемся участке сайт-специфического белка-фермента расположены так, чтобы усилить электростатические и водородные связи, возникающие при взаимодействии белка и определённой последовательности ДНК (рис. 43).

На электронных микрофотографиях (рис. 44) хорошо видно большое количество молекул РНК-полимеразы II вместе с растущими цепями РНК-транскриптов на интенсивно транскрибируемом гене. Транскрипция происходит в одном направлении. Единица транскрипции ограничена специальными последовательностями, распознающимися РНК-полимеразой II, – *сигналом инициации* и *сигналом терминации* (рис. 45).

ДНК-связывающий белок
Малая бороздка
Большая бороздка
Аспарагин
Большая бороздка ДНК
Тимин
Аденин
Малая бороздка ДНК
Радиус сахарофосфатного скелета
А
Б

Рис. 43. Узнавание ДНК-связывающими белками определённых пар оснований в составе молекулы ДНК (по: Албертс и др., 1994). А – Двойная спираль ДНК с большой и малой бороздками. Б – (вид вдоль оси спирали) взаимодействие аминокислоты и А-Т - пары нуклеотидов.



Рис. 44. Область хроматина, в которой один из генов транскрибируется с высокой частотой; хорошо видно большое число молекул РНК-полимеразы II вместе с растущими цепями РНК-транскриптов. Транскрипция направлена слева направо (по: Албертс и др., 1994).

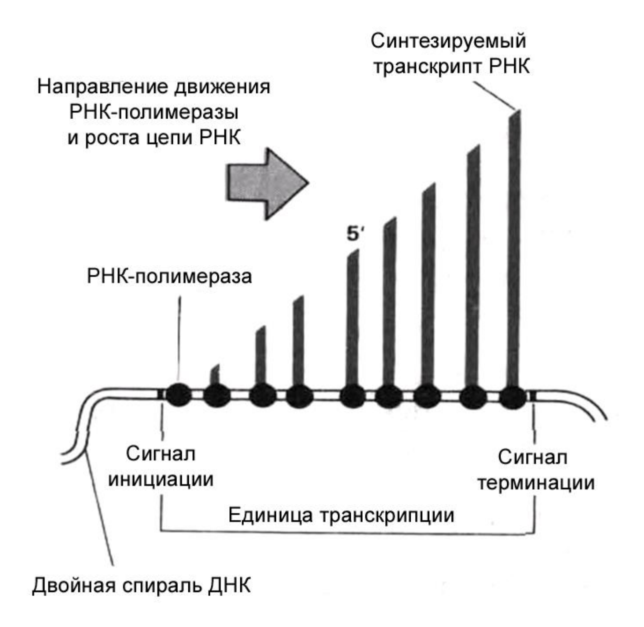


Рис. 45. Схематическое изображение идеальной транскрипционной единицы (по: Албертс и др., 1994).

2.3.3. Процессинг и сплайсинг

Однако не вся нуклеотидная последовательность ДНК, входящая в состав гена, содержит полезную информацию для синтеза РНК. Кодирующие последовательности внутри гена называются *экзонами*, а разделяющие их некодирующие последовательности – *интронами*. Молекула РНК, только что синтезированная с гена, носит название *первичного транскрипта*, или *пре-РНК*. Для того чтобы первичный транскрипт превратился в зрелую РНК, он должен подвергнуться *процессингу* – серии посттранскрипционных изменений. Важнейшая часть процессинга – *сплайсинг* – вырезание некодирующих последовательностей (интронов) и сращивание кодирующих (экзонов) (рис. 46). Такая прерывистая, экзон-интронная организация гена – эволюционное приобретение эукариотических клеток. В геноме вирусов и бактерий, которые из-за своей малой величины не могут содержать большой объем генетической информации, интронов нет. В геноме же высших млекопитающих и человека количество некодирующей ДНК доходит до 90%. Кроме того, в каждом гене имеются регуляторные последовательности ДНК, с которыми связываются регуляторные белки, контролирующие синтез РНК. На рис. 47 приведена таблица размера генов и их готовых мРНК для некоторых важнейших белков человека, а также число интронов в этих генах.

Молекулярные механизмы процессинга и сплайсинга мРНК весьма сложны. По мере синтеза и роста РНК связывается с рядом ядерных белков, в том числе, наматывается на глобулярные белковые частицы – *информоферы*. В состав информофера входит более 30 молекул белка *информатина*. Участки РНК между информоферами могут быть использованы для сплайсинга с помощью специальных белковых комплексов – *сплайсосом*. Информоферы различают границы между экзонами и интронами и связываются лишь с экзонами. После синтеза РНК укорачивается (за счет вырезания из неё интронов) и выходит из ядра в цитоплазму, теряя по пути белки информофера: РНК как бы «переодевается» в ядерной поре, при этом белки информофера остаются в ядре. В цитоплазме мРНК снова «одеваются», уже новыми белками, образуя *информосому* – особую форму хранения мРНК в неактивном состоянии, или связываются с белками, необходимыми для трансляции.

Один ген может быть матрицей для синтеза нескольких, пусть и схожих, белков. Это достигается с помощью *альтернативного сплайсинга*, при котором в качестве интронов вырезаются различные участки РНК. Поэтому старое правило «один ген – один белок» не совсем верно. Примером может служить иммунная система человека, способная продуцировать миллионы *антител* (*иммуноглобулинов*) – белков, специфичных к каждому из

чужеродных *антигенов*, попадающих в организм. Такое разнообразие специфичных белков образуется в результате альтернативного сплайсинга из немногих исходных генов. Кроме того, несколько генов могут кодировать один сложный белковый комплекс, – в этом случае генов будет больше, чем белков. А у некоторых вирусов и прокариот найдены перекрывающиеся последовательности генов, – считывание гена начинается и заканчивается с разных мест, и один и тот же участок ДНК служит матрицей для синтеза совершенно различных белков.

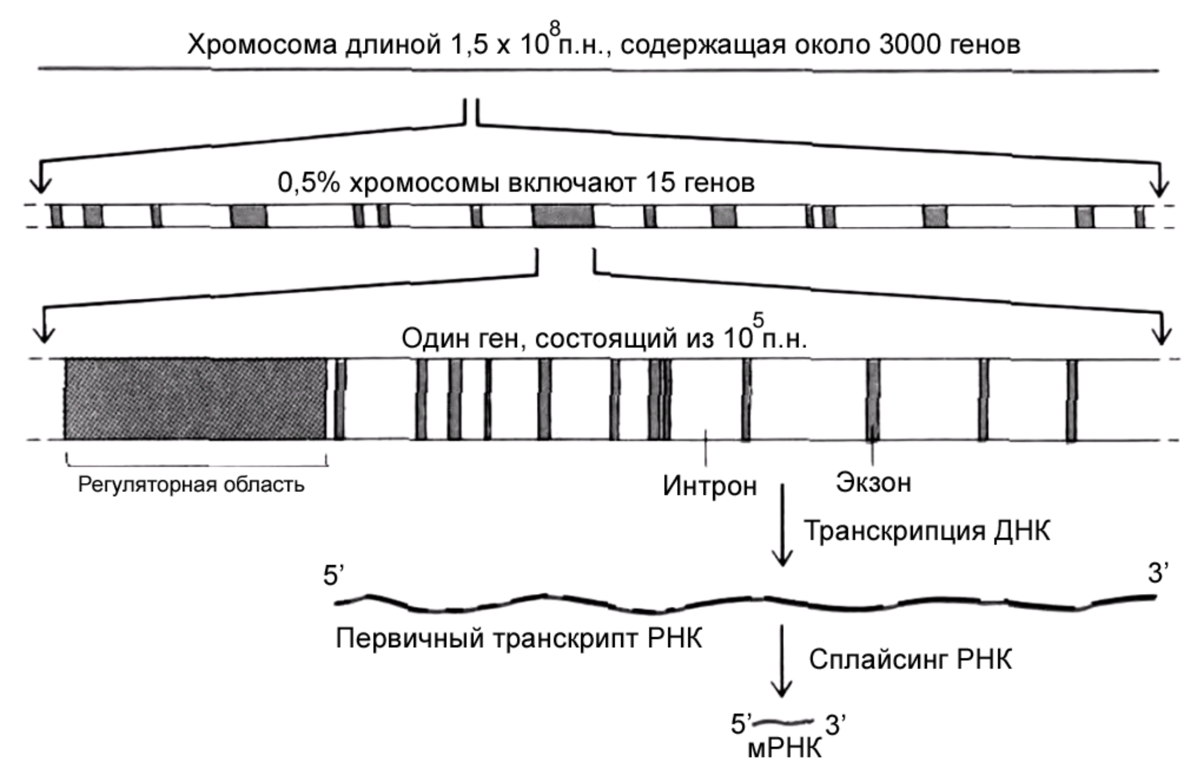


Рис. 46. Организация генов в типичной хромосоме позвоночных (по: Албертс и др., 1994).

	Размер гена	Размер мРНК	Число интронов
β-глобин	1,5	0,6	2
Инсулин	1,7	0,4	2
Протеинкиназа С	11	1,4	7
Альбумин	25	2,1	14
Каталаза	34	1,6	12
Рецептор ЛНП	45	5,5	17
Фактор VIII	186	9	25
Тироглобулин	300	8,7	36
Дистрофин	Более 2000	17	Более 50

Рис. 47. Размер некоторых генов человека, производимых ими мРНК (в тысячах нуклеотидов) и число интронов в этих генах.

2.3.4. Регуляция активности генов

Функционально гены можно поделить на две группы. Гены, кодирующие белки, называются *структурными*. Гены, регулирующие экспрессию (активность) других генов, называются *регуляторными*.

Активность генов проявляется в интенсивности синтеза на них РНК. Клетка управляет синтезом различных белков, и, соответственно, всеми жизненными процессами, регулируя активность своих генов. Простейшая модель регуляции экспрессии генов описана

для генов *лактозного оперона* кишечной палочки *Escherichia coli*. Опероном называют комплекс структурных (кодирующих белок) генов вместе с их регуляторной областью. В случае лактозного оперона речь идет о структурных генах, кодирующих фермент *лактазу*, расщепляющий сахар *лактозу* – пищевой субстрат этих бактерий. На рис. 48 представлена общая схема структуры лактозного оперона.

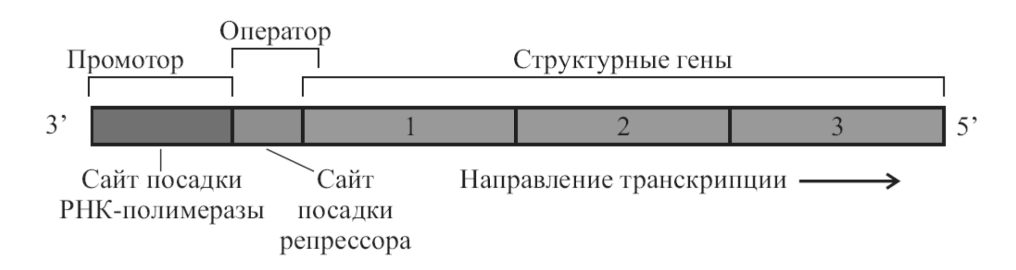


Рис. 48. Структура лактозного оперона бактерии *E. coli* (по: Албертс и др., 1994).

Промотор – это нуклеотидная последовательность, с которой связывается РНК-полимераза, необходимая для транскрипции структурных генов. *Оператор* – это участок (сайт), с которым связывается специальный регуляторный *белок-репрессор*, подавляющий транскрипцию структурных генов. Поскольку промоторная и операторная последовательности перекрываются, связывание репрессора с оператором мешает связыванию РНК-полимеразы с промотором, что и приводит к блокированию транскрипции. Когда в среде появляются молекулы лактозы, одна из них комплементарно (по принципу «ключ – замок») связывается с молекулой белка-репрессора и «отрывает» его от оператора. Тогда РНК-полимераза свободно садится на промотор, и запускается процесс транскрипции структурных генов. Вслед за транскрипцией следует трансляция: синтезируется белок – фермент лактаза. Появление в среде лактазы приводит к постепенному перевариванию лактозы. Последней расщепляется молекула лактозы, связавшаяся с белком-репрессором. После расщепления этой последней молекулы, белок-репрессор освобождается и вновь садится на оператор. Транскрипция блокируется. Как можно видеть, такой простейший способ регуляции активности генов работает по принципу отрицательной обратной связи.

В эукариотической клетке механизмы регуляции генной экспрессии, как правило, гораздо сложнее. Можно различить *прямую* и *опосредованную системы регуляции* транскрипции.

Прямая система регуляции, затрагивающая гены непосредственно, состоит из *транс-регуляторного аппарата* (это набор генов, кодирующих регуляторные белки), и *цис-регуляторного аппарата* (представляет собой сайты-мишени, т.е. определённые последовательности ДНК, на которые садятся регуляторные белки, изменяя активность контролируемого гена). Те регуляторные области, которые при связывании с белками подавляют синтез РНК, называются *репрессорами*, а те, что инициируют синтез – *энхансерами*. Белок, соединяющийся с энхансером и запускающий процесс транскрипции, называют *транскрипционным фактором*. У одного структурного гена может быть множество репрессоров и энхансеров одного или разных типов, расположенных как поблизости структурного гена, так и достаточно далеко от него. Будет ли экспрессироваться данный ген и с какой интенсивностью, чаще всего зависит от баланса занятых регуляторными белками его репрессоров и энхансеров.

Опосредованная (непрямая) регуляция заключается в компактизации и декомпактизации хроматина. Компактный гетерохроматин не активен, тогда как декомпактизованный эухроматин готов взаимодействовать с регуляторными белками, поэтому легко вовлекается в процессы транскрипции.

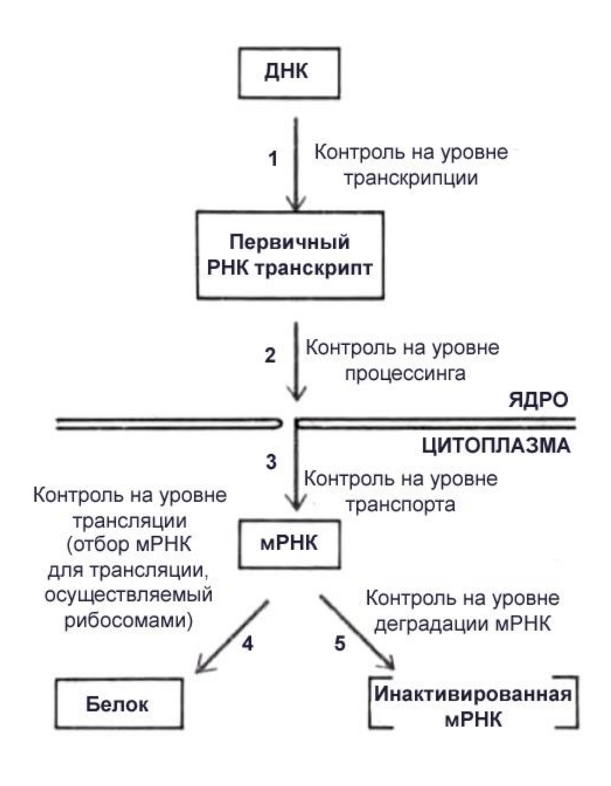


Рис. 49. Пять уровней контроля генной экспрессии у эукариот (по: Албертс и др., 1994).

Вообще, в клетке можно выделить пять уровней контроля синтеза белка; на пути, ведущем от ДНК к белку, этот контроль может реализовываться практически на любом этапе (рис. 49). Основными «контрольными точками» могут служить: 1 – время и характер транскрипции данного гена (контроль на уровне транскрипции); 2 – характер процессинга первичного РНК-транскрипта (контроль на уровне процессинга); 3 – отбор в ядре зрелых мРНК, предназначенных для экспорта в цитоплазму (контроль на уровне транспорта); 4 – отбор в цитоплазме мРНК для трансляции на рибосомах (контроль на уровне трансляции); 5 – избирательная дестабилизация определенных типов мРНК в цитоплазме (контроль на уровне деградации мРНК). После того, как белок синтезирован, его активность может контролироваться за счет регулируемой деградации, обратимых модификаций (типа фосфорилирования или других), ведущих к активации либо к инактивации белка, и путем перемещения молекулы белка (компартментации) в определенное место клетки.

Тема 3. Аппарат пластического метаболизма

3.1. Общая характеристика клеточного метаболизма

Понятие «метаболизм» отражает совокупность реакций обмена веществ и энергии в живой системе. Согласно законам термодинамики, синтез вещества сопровождается поглощением энергии (она запасается в химических связях синтезируемого вещества), а распад молекул на более простые составляющие сопровождается выделением энергии (за счет разрыва химических связей).

Основные классы органических макромолекул, синтезируемых в клетке, – это белки, липиды (жиры), углеводы и нуклеиновые кислоты. Совокупность реакций биосинтеза макромолекул, сопровождающихся поглощением энергии, называют ***пластическим метаболизмом***.

Энергия, непосредственно используемая живыми системами на биосинтезы и другие виды работ, аккумулирована в химических связях универсального носителя – молекул *аденозинтрифосфорной кислоты*, или *АТФ*. В свою очередь, АТФ заранее синтезируется из АДФ и одного остатка фосфорной кислоты (или из АМФ и двух фосфатных остатков) под действием внешней энергии, в частности, получаемой при распаде веществ, поступивших с пищей. Совокупность реакций распада вещества, сопровождающихся синтезом АТФ, называют ***энергетическим метаболизмом***. В дальнейшем АТФ расходуется на осуществление в клетке большого количества энергозависимых процессов, в том числе, на реакции пластического метаболизма. Таким образом, пластический и энергетический метаболизм – две взаимосвязанные и взаимозависимые составляющие процесса клеточного метаболизма, или обмена.

Важнейший биосинтез, происходящий в клетке, – это синтез белка. Он осуществляется с помощью особых органоидов – *рибосом*. После трансляции белки созревают – достраиваются углеводами (т.е. превращаются в *гликопротеиды*) или липидами (*липопротеиды)*, обезвоживаются, приобретают нужную пространственную конфигурацию (третичную и четвертичную структуру). Готовые белки внутриклеточного назначения (волокна, ферменты и др.) направляются непосредственно с рибосом в гиалоплазму, а белки, предназначенные «на экспорт» (для использования вне клетки), упаковываются в вакуоли и выводятся из клетки посредством секреции.

Однако, для того, чтобы построить собственные *полимерные* молекулы (главным образом, белки), клетке необходимо регулярно получать строительный материал – *мономеры* (для белков это аминокислоты). Фонд мономеров пополняются в результате их первичного синтеза (у автотрофов) и путем расщепления сложных макромолекул – либо своих устаревших, либо чужих, полученных с пищей. Таким образом, пластический метаболизм складывается из двух взаимосвязанных процессов – *анаболизма* (синтез макромолекул) и частичного *катаболизма* (распад макромолекул на мономеры, происходящий в пищеварительном тракте или в самой клетке в ходе внутриклеточного пищеварения).

Аппарат внутриклеточного пищеварения представлен *лизосомами*. Аппарат *анаболизма* включает *эндоплазматический ретикулум* (ЭПР) – *шероховатый* (*ШЭР*), содержащий на поверхности мембран рибосомы, *гладкий* (*ГЭР*) – без рибосом, а также *аппарат Гольджи*. Все эти органоиды, образующие целостную *вакуолярную систему клетки*, взаимодействуют друг с другом в процессах синтеза белков (трансляции), их посттрансляционных перестроек, транспорта, упаковки и секреции.

3.2. Шероховатый эндоплазматический ретикулум

Шероховатый эндоплазматический ретикулум (ШЭР) представляет собой сеть уплощенных мембранных цистерн, связанных между собой и с оболочкой ядра эндоплазматическими мостиками. На поверхности ШЭР с помощью особых поверхностных белков закреплены рибосомы (рис. 50). Рибосомы, связанные с ШЭР, участвуют в синтезе экспортируемых (выводимых из клетки) белков – различных секретов, белков мембраны и гиалоплазмы. Помимо синтеза белков ШЭР задействована в процессах их сегрегации, обособления, созревания и транспорта.

Созревание экспортируемого белка происходит внутри цистерн ШЭР. Для попадания растущих белковых цепей в цистерну в мембране ШЭР под каждой рибосомой имеется особый *интегральный* (сквозной) белок, исполняющий роль транспортного канала. У синтезируемых белков, которые направляются внутрь цистерн ШЭР, в ходе трансляции сначала формируется так называемая *сигнальная последовательность*, выполняющая функцию некого пароля. Сигнальная последовательность распознается интегральным белком-каналом, и синтезирующийся белок пропускается внутрь цистерны. В канале ШЭР сигнальная последовательность отщепляется – созревающему белку она больше не нужна. Белковая цепь полностью заходит внутрь цистерны ШЭР и претерпевает там ряд дополнительных изменений, или модификаций (рис. 51). Различают *котрансляционные модификации* белка, т.е. идущие в момент трансляции (например, отрезание сигнальной последовательности), и *посттрансляционные модификации* белка, которые начинаются после того, как белок окончательно сформировал свою первичную структуру и полностью прошел в цистерну ШЭР. К посттрансляционным модификациям белка относятся такие превращения, как гликозилирование (достраивание углеводами), разрезание полипептидной цепи на фрагменты и их сшивка в новой последовательности, обезвоживание, создание дисульфидных мостиков и формирование третичной и четвертичной структуры белка.

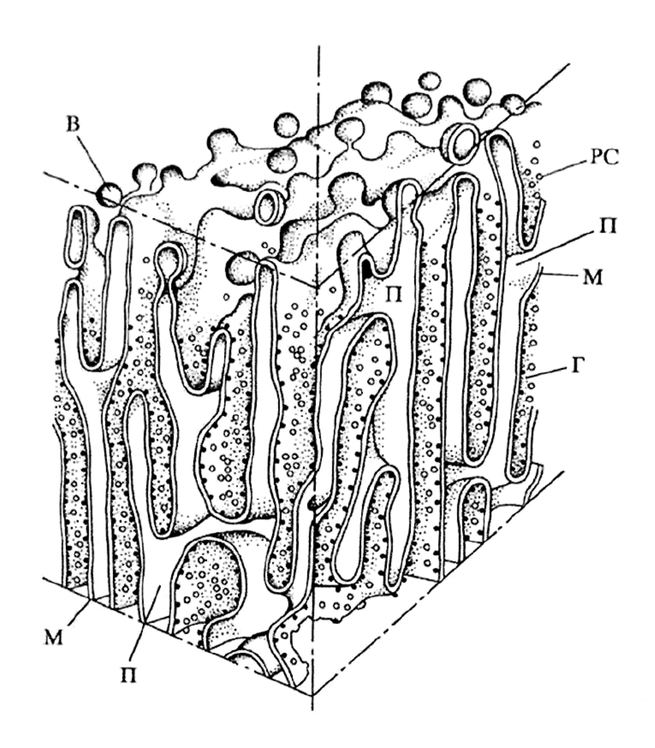


Рис. 50. Схема строения ШЭР (по: Ченцов, 2004). РС – рибосомы, прикреплённые к мембранам со стороны гиалоплазмы (Г); П – полости цистерн и каналов; М – мембраны; В – вакуоли с синтезированными продуктами, отщепляющиеся от цистерн ШЭР. В зонах отщепления рибосомы на мембранах исчезают.

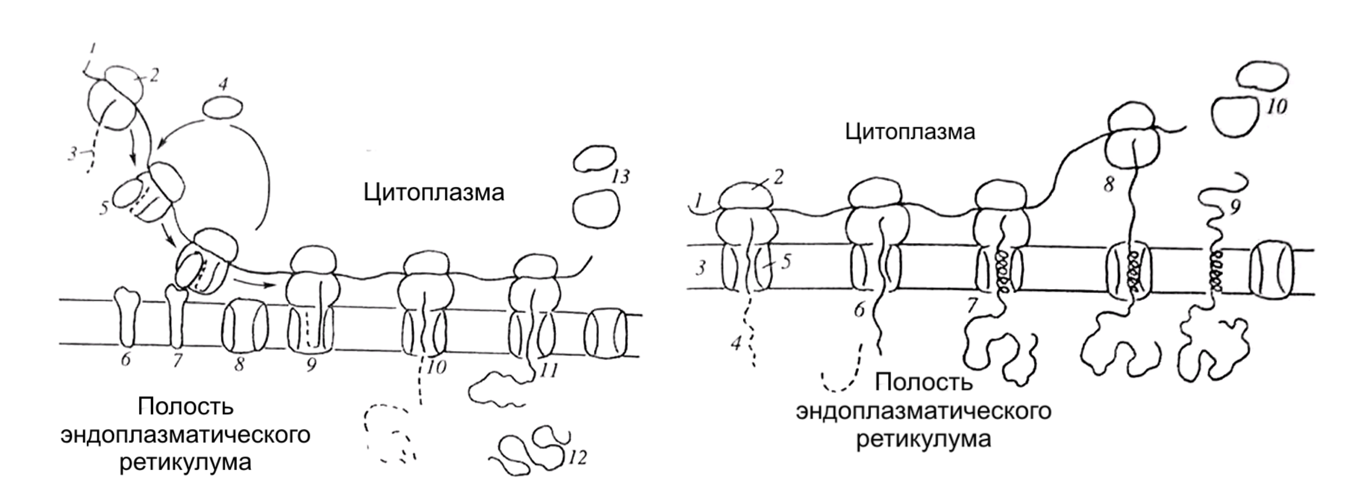


Рис. 51. Синтез экспортируемых белков в ШЭР (по: Ченцов, 2004). 1 – иРНК; 2 – функционирующая рибосома; 3 – сигнальный конец синтезирующегося пептида; 4 – SRP-частица; 5 – SRP-частица связывается с сигнальным пептидом и прекращает синтез белка; 6 – рецептор SRP-частицы; 7 – связь рецептора с SRP-частицей; 8 – канальные белки мембраны ШЭР; 9 – освобождение SRP-частицы и продолжение роста белковой молекулы; 10 – отщепление и деградация сигнальной последовательности синтезируемого белка; 11 – продолжение роста белковой цепи; 12 – синтезированный белок в просвете вакуоли ШЭР; 13 – диссоциированная рибосома.

Рис. 52. Синтез мембранных белков в ШЭР (по: Ченцов, 2004). 1 – иРНК; 2 – функционирующая рибосома; 3 – мембрана ШЭР; 4 – растущий пептид после освобождения SRP-частицы; 5 – канальные белки мембраны ШЭР; 6 – отщепление сигнального пептида; 7 – «стоп»-сигнальный участок растущего пептида закрепляет его в мембране ШЭР; 8 – продолжение роста белка в цитозольное пространство; 9 – образовавшийся интегральный мембранный белок; 10 – диссоциированная рибосома.

Неполное прохождение полипептидных цепей в цистерну имеет место при синтезе мембранных белков самой ШЭР, например, самих интегральных белков-каналов. Мембранные белки ШЭР синтезируются почти идентично тому, как описано выше, но в их цепи есть одна или несколько стоп-последовательностей, которые препятствуют прохождению белка через мембрану. Таким образом, белок в области стоп-сигнала остаётся связанным с мембраной, хотя синтез белка при этом не останавливается, синтезируется внешняя часть молекулы белка, со стороны цитоплазмы (рис. 52). Помимо мембранных белков, в ШЭР синтезируются и липиды, входящие в состав ее мембран, – таким образом, ШЭР обновляет сама себя. Ферменты, участвующие в синтезе липидов, встроены в мембрану ШЭР со стороны гиалоплазмы.

Белки, предназначенные для внутриклеточного использования, вообще не попадают внутрь цистерн ШЭР. Они синтезируются либо на свободных рибосомах, образующих в цитоплазме цепочки *полисомы* (каждая полисома представляется собой одну молекулу мРНК с нанизанными на нее рибосомами), либо также на рибосомах ШЭР, но без дальнейшего прохождения через интегральные белки-каналы. Таким образом, эти белки с рибосом уходят прямо в гиалоплазму и формируют там различные цитоплазматические структуры, например, элементы цитоскелета или ферментные комплексы.

Поскольку цистерны шероховатого ретикулума связаны с наружной мембраной ядра (которая тоже несет на себе рибосомы и, по сути, является началом ШЭР), ШЭР, как правило, окружает ядро и занимает в клетке центральное положение. Таким образом, по мере своего преобразования в цистернах ШЭР созревающий белок-секрет продвигается от центра клетки к ее периферии и направляется в следующий компартмент – *аппарат Гольджи*, где модифицирование белка будет продолжено.

3.3. Аппарат Гольджи

Структурно-функциональной единицей аппарата Гольджи является *диктиосома* – стопка уплощенных мембранных цистерн, не связанных между собой эндоплазматическими мостиками (рис. 53 и 54). Совокупность всех диктиосом клетки и образует аппарат Гольджи. Кроме тесно расположенных плоских цистерн, в зоне аппарата Гольджи наблюдается множество вакуолей и коротких мембранных цистерн, как правило, на периферических участках диктиосом; иногда видно, как вакуоли «отшнуровываются» от расширений на краях плоских цистерн. В диктиосоме различают *проксимальный*, или формирующийся участок – *цис-полюс*, обращённый к ШЭР, и *дистальный*, или зрелый участок – *транс-полюс*, обращённый к плазматической мембране. Таким образом, цис-полюс диктиосомы принимает полуготовые белки из последних цистерн ШЭР, а транс-полюс выпускает готовый продукт, который будет затем направляться непосредственно «на экспорт» из клетки.

Перенос белков от последних цистерн ШЭР к первым цистернам цис-полюса диктиосомы осуществляется путем *везикулярного транспорта* – транспорта в мембранных пузырьках (рис. 58). При этом небольшой участок мембраны ШЭР отпочковывается от цистерны и превращается в пузырек – *везикулу* с заключенным в ней белком. Везикула перемещается к цис-полюсу диктиосомы и сливается с ним – содержимое везикулы оказывается в цистерне аппарата Гольджи. Точно так же осуществляется перенос белков между цистернами диктиосомы, т.е. их транспорт от цис-полюса к транс-полюсу. По ходу транспортировки, белок претерпевает в аппарате Гольджи дальнейшую (и, как правило, окончательную) модификацию, заключающуюся в основном в гликозилировании. Кроме того, аппарат Гольджи может синтезировать сложные полисахариды, не связанные с белком. В итоге, от периферических участков цистерн транс-полюса отшнуровываются пузырьки с готовым секретом (белковым или полисахаридным). Так формируются секреторные гранулы или вакуоли, которые затем выводятся из клетки путем *экзоцитоза*: мембрана пузырька сливается с плазматической мембраной и становится ее частью, а содержимое освобождается во внешнюю среду (рис. 58).

Кроме секреторных гранул и вакуолей от транс-полюса отшнуровываются *лизосомы* – мембранные пузырьки с белками-ферментами внутриклеточного пищеварения, а также особые мембранные везикулы, предназначенные для обновления плазматической мембраны. С внутренней стороны мембраны этих везикул встроены разнообразные белки – рецепторы, ионные каналы и прочие, которые при слиянии пузырьков с плазматической мембраной оказываются на ее наружной стороне.

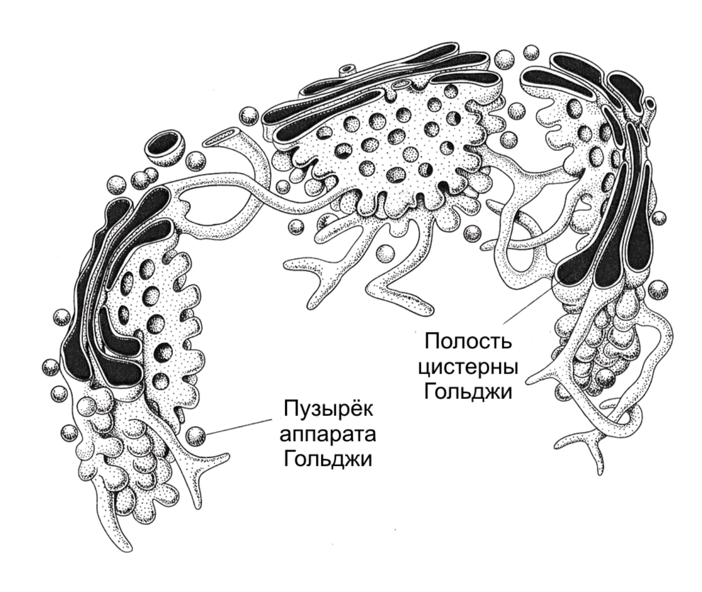


Рис. 53. Трёхмерная реконструкция диктиосомы аппарата Гольджи растительной клетки (по: Албертс и др., 1994).

Рис. 54. Схематическое изображение сечения диктиосомы аппарата Гольджи (по: Ченцов, 2004). П – проксимальная (цис) часть; Д – дистальная (транс) часть; В – вакуоли; Ц – плоские мембранные цистерны; А – ампулярные расширения цистерн.

3.4. Гладкий эндоплазматический ретикулум

Гладкий эндоплазматический ретикулум (ГЭР) представляет собой совокупность трубчатых цистерн, лишенных рибосом. ГЭР может соединяться с ШЭР и образовывать вместе с ним единую эндоплазматическую сеть (рис. 55). Гладкий ретикулум предназначен для синтеза липидов и некоторых внутриклеточных полисахаридов. Особо мощного развития ГЭР достигает в клетках, секретирующих *стероиды* (гормоны липидной природы), например, в клетках коркового вещества надпочечника. Также ГЭР может выполнять ряд частных функций, например, функцию накопления различных веществ. Так, в ГЭР иногда встречаются отложения гликогена, а в поперечно-полосатых мышцах в его цистернах депонируются ионы кальция, необходимые для регуляции мышечного сокращения.

3.5. Лизосомы

Лизосомы представляют собой мембранные пузырьки, заполненные пищеварительными ферментами. Как уже отмечалось, они образуются за счёт активности ШЭР и аппарата Гольджи. Содержимое лизосом насчитывает более 40 видов гидролитических ферментов (протеазы, нуклеазы, гликозидазы, фосфорилазы, сульфатазы и др.), оптимально работающих при pH 5 и служащих для расщепления всех основных типов биомолекул. Также в составе лизосом постоянно присутствует фермент *кислая фосфатаза*, по наличию которого и выявляют эти органоиды. В мембрану лизосом встроены белки-переносчики аминокислот, сахаров, нуклеотидов и других малых молекул – продуктов расщепления сложных макромолекул. Пока лизосома не содержит пищи, ферменты неактивны. Такая лизосома называется *первичной.*

Клетка захватывает пищу путем *эндоцитоза.* Рецепторы на поверхности плазматической мембраны клетки «чувствуют» присутствие органического вещества, пригодного к заглатыванию. Клетка движется в сторону стимула, образует псевдоподии (ложноножки), которые окружают заглатываемую частицу, и как бы наплывает на неё. Далее

псевдоподии смыкаются над частицей, так что она оказывается внутри клетки в мембранной оболочке, образованной участком плазматической мембраны. Образовавшийся таким образом пузырек с пищей называется *фагосомой,* или *фагоцитарной вакуолью*. Соответственно, процесс заглатывания частиц называют *фагоцитозом.* Если же поглощаются капельки жидкости, то говорят о *пиносомах* и *пиноцитозе* соответственно. Фагоцитоз и пиноцитоз – это две разновидности эндоцитоза.

Фагоцитарная вакуоль сливается в цитоплазме с первичными лизосомами, образуя *вторичную лизосому*, или *пищеварительную вакуоль,* – в ней ферменты-гидролазы получают доступ к веществам, поглощённым клеткой. При слиянии происходит активизация пищеварительных ферментов, и начинается процесс клеточного пищеварения. Сложные органические вещества пищи (белки, липиды, полисахариды) расщепляются на мономеры (аминокислоты, жирные кислоты, моносахара), которые затем выходят в цитоплазму через белковые каналы в мембране лизосомы. Лизосома с непереваренными остатками называется *третичной лизосомой,* или *телолизосомой*, или *остаточным тельцем.* Она подходит к мембране клетки и выбрасывает остатки путем *экзоцитоза* (рис. 56).

Активация пищеварительных ферментов лизосом происходит при участии фермента кислой фосфатазы. В первичной лизосоме пищеварительные ферменты – гидролазы – инактивированы за счет фосфорилирования их активных центров. При слиянии фагосомы с первичной лизосомой внутрь образовавшейся пищеварительной вакуоли из цитоплазмы закачиваются протоны водорода H^+, что приводит к созданию кислой среды, а именно pH 5. В такой среде кислая фосфатаза активизируется и отщепляет фосфорные остатки от молекул фермента, приводя их, таким образом, в активное состояние. Запускается процесс внутриклеточного пищеварения.

Клеточному пищеварению могут подвергаться как вещества извне – такой тип пищеварения получил название *гетерофагия*, так и собственные органоиды клетки или целые клетки многоклеточного организма – *аутофагия*. За счет аутофагии происходит отбрасывание хвоста у головастика и ящерицы, разрушение тканей при метаморфозе у насекомых и т. д. В *аутолизосомах* (*аутофагосомах*) встречаются фрагменты или даже целые цитоплазматические структуры, такие как митохондрии, пластиды, элементы ШЭР, рибосомы и пр. Таким путем клетка очищается от собственных старых или вышедших из строя элементов, переваривая их и утилизируя.

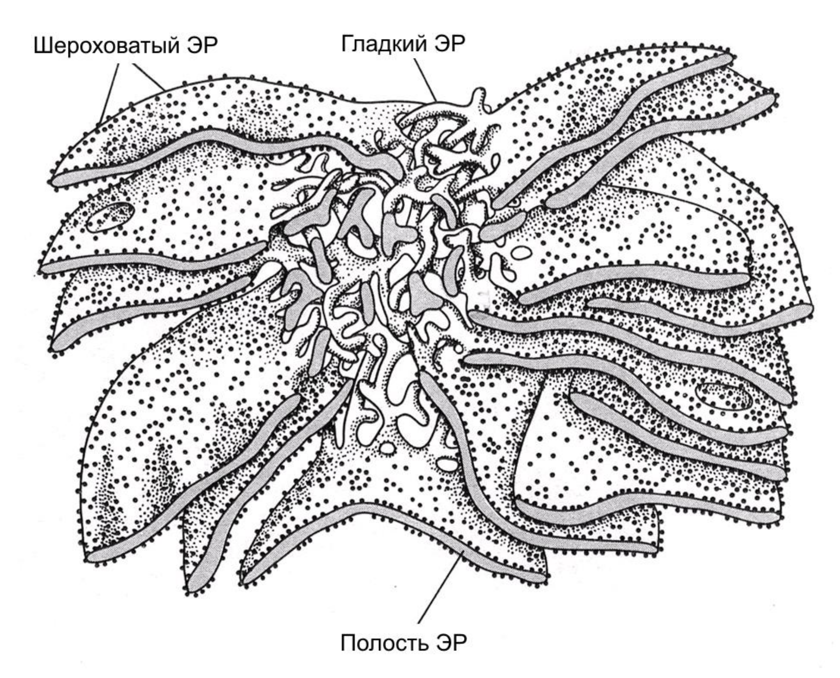


Рис. 55. Переход ШЭР в ГЭР. Трёхмерная реконструкция (по: Албертс и др., 1994).

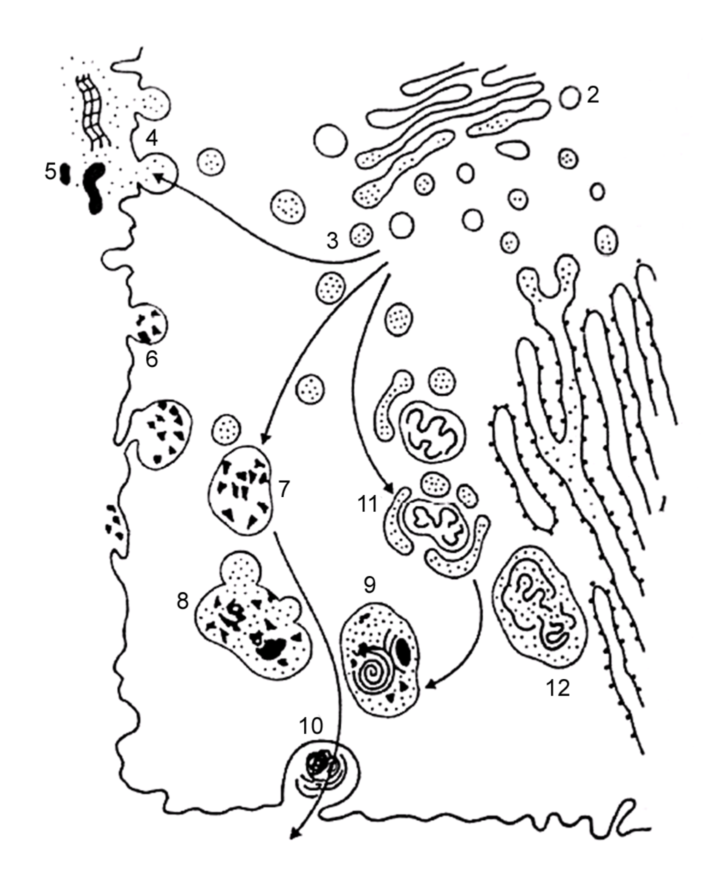


Рис. 56. Образование лизосом и их участие в клеточных процессах (по: Ченцов, 2004). 1 – синтез гидролитических ферментов в ШЭР; 2 – переход их в аппарат Гольджи; 3 – образование первичных лизосом; 4 – выброс и использование (5) гидролаз при внеклеточном расщеплении; 6 – эндоцитозные вакуоли; 7 – слияние с ними первичных лизосом; 8 – образование вторичных лизосом; 9 – телолизосомы; 10 – экскреция остаточных телец; 11 – первичные лизосомы принимают участие в образовании аутофагосомы (12).

3.6. Вакуоли растительных клеток.

У молодых растительных клеток может быть несколько мелких вакуолей, которые по мере роста клетки сливаются друг с другом и образуют одну или несколько крупных вакуолей, занимающих до 90% объёма всей клетки (рис. 57). Мембрана вакуоли носит название *тонопласт*. Вакуоли образуются из пузырьков, продуцируемых аппаратом Гольджи.

Полость вакуоли заполнена клеточным соком – водным раствором различных неорганических солей, сахаров, органических кислот и других низкомолекулярных соединений, а также некоторых высокомолекулярных веществ (например, белков).

Функция вакуолей сводится в основном к поддержанию тургорного давления растительной клетки, приданию ей необходимой прочности и напряжения. Кроме того, вакуоли могут использоваться как накопительный резервуар, где не только откладываются запасные вещества (сахара, белки), но и собираются метаболиты, предназначенные для экскреции (алкалоиды, глюкозиды, пигменты).

* * *

Таким образом, в клетке имеется целая вакуолярная система, состоящая из мембранных органоидов аппарата пластического метаболизма: ШЭР, ГЭР, аппарата Гольджи, секреторных гранул, вакуолей и лизосом. Пластический аппарат клетки представляет собой единую систему внутриклеточных мембранных цистерн и вакуолей, связанных друг с другом движением веществ, их синтезом, созреванием, модификацией, сортировкой, в процессе которых вещества попадают из одного органоида в другой и, наконец, используются клеткой или, сливаясь с плазматической мембраной, выводятся из

нее. В аппарате Гольджи происходит необратимое преобразование *эндомембран* в *экзомембраны*, с их специфическими рецепторами, белковыми каналами, различными маркерами тканевой принадлежности клеток. Мембраны, поступающие с поверхности клетки в цитоплазму (например, при фаго- и пиноцитозе), рано или поздно возвращаются в плазмалемму, либо разрушаются на отдельные молекулы. Таким образом, в клетке существует направленный поток элементов вакуолярной системы от эндоплазматической сети к наружной плазмалемме. Схема путей движения веществ в вакуолярной системе клетки показана на рис. 58.

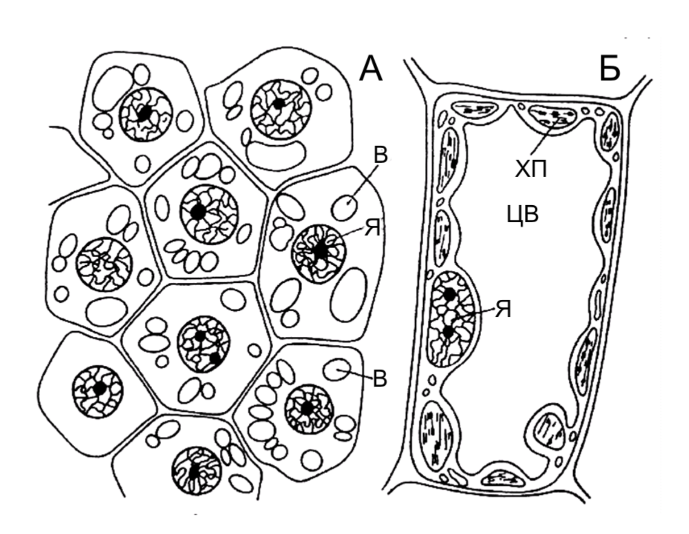


Рис. 57. Вакуоли в клетках меристемы корня (А) и мезофилла листа (Б) (по: Ченцов, 2004). Я – ядро; В – вакуоли; ХП – хлоропласты; ЦВ – центральная вакуоль.

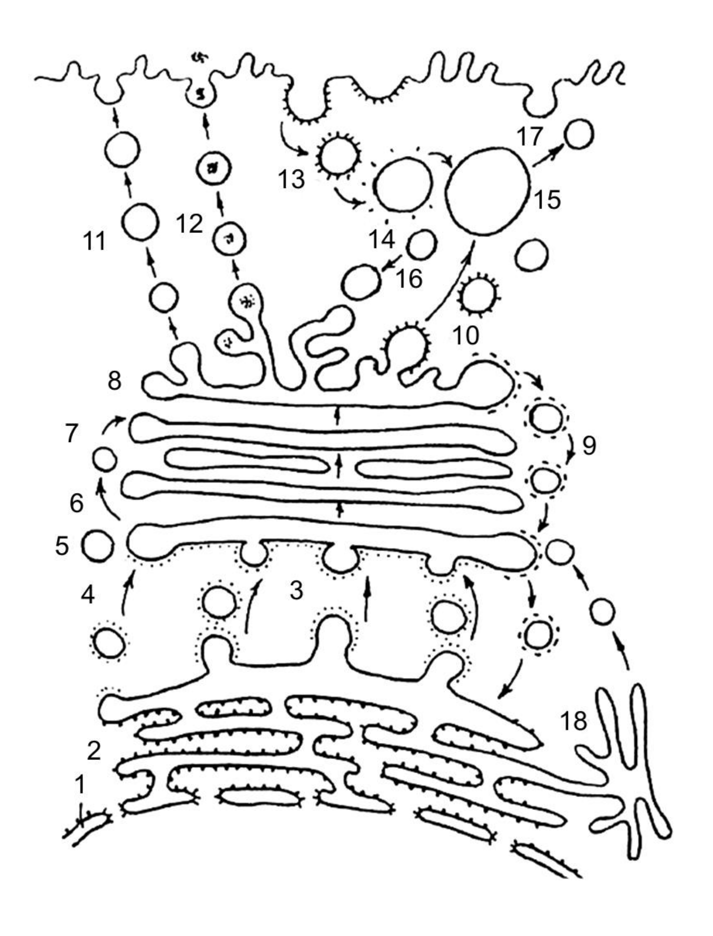


Рис. 58. Общая схема вакуолярной системы клетки (по: Ченцов, 2004). 1 – ядерная оболочка; 2 – ШЭР; 3 – переходная зона (ШЭР – аппарат Гольджи); 4 – перенос от ШЭР к аппарату Гольджи; 5 – цис-полюс аппарата Гольджи; 6 – средняя часть аппарата Гольджи; 7 – транс-полюс аппарата Гольджи; 8 – транс-сеть аппарата Гольджи; 9 – возвратный путь вакуолей аппарата Гольджи; 10 – отделение первичных лизосом; 11 – постоянная экскреция (секреция); 12 – сигнальная секреция; 13 – эндоцитоз; 14 – эндосома; 15 – вторичная лизосома; 16 – возврат лизосомных мембран в аппарат Гольджи; 17 – возврат рецепторов в плазматическую мембрану; 18 – ГЭР.

Тема 4. Аппарат энергетического метаболизма

4.1. Общая характеристика реакций энергетического метаболизма

Почти все процессы, протекающие в клетке, энергозависимы: реакции пластического метаболизма (работа ферментов), движение, транспорт веществ и др. Откуда берется энергия, необходимая для обеспечения всех этих потребностей?

Энергия в живых системах хранится в виде универсальных энергоемких молекул – *АТФ* (*аденозин**три**фосфорная кислота*), а именно – в двух химических связях, соединяющих между собой три остатка фосфорной кислоты (рис. 59). Эти связи обладают высокой энергоемкостью и потому называются *макроэргическими связями*. При отсоединении последнего в цепочке фосфата образуется *АДФ* (*аденозин**ди**фосфорная кислота*), в результате чего энергия разорвавшейся химической связи, эквивалентная 40 кДж/гМ АТФ, освобождается и используется клеткой. Возможно дальнейшее расщепление АДФ до *АМФ* (*аденозин**моно**фосфорная кислота*) и второго остатка фосфорной кислоты, при этом выделяется еще 30 кДж энергии. Таким образом, разрыв макроэргических связей сопровождается извлечением из молекулы АТФ большого количества энергии, которая используется клеткой для всех видов работ.

Чтобы запас АТФ не иссякал, ее необходимо все время синтезировать заново – из АДФ (АМФ) и фосфорной кислоты, но для этого, согласно законам термодинамики (см. выше), необходимо поступление внешней энергии и ее поэтапная трансформация в сложных и многочисленных реакциях энергетического метаболизма.

Рис. 59. Структурная формула молекулы аденозинтрифосфата (АТФ) (по: Ченцов, 2004).

Разные организмы могут усваивать внешнюю энергию в разных формах. В соответствии с этим выделяют две основные группы организмов – *автотрофы* и *гетеротрофы*.

Автотрофы синтезируют АТФ, используя энергию неживой природы. Во-первых, это энергия, заключенная в химических связях неорганических веществ, которая извлекается в ходе химических реакций (чаще всего окислительно-восстановительных), осуществляемых в процессах *хемосинтеза*. Механизм хемосинтеза используют в своих энергетических нуждах многие бактерии – серобактерии, железобактерии, азотные бактерии. Во-вторых, это энергия солнечного света, поглощаемая в реакциях *фотосинтеза*. К фотосинтетикам относятся зеленые растения и цианобактерии (синезеленые «водоросли»), имеющие в составе своих клеток светопоглощающие пигменты, главным из которых является зеленый пигмент *хлорофилл*. В растительных клетках хлорофилл локализован в специальных органоидах – *хлоропластах*, а у цианобактерий – прямо на наружных клеточных мембранах.

В ходе реакций фотосинтеза из простых неорганических соединений – углекислого газа и воды – синтезируется органическое вещество – глюкоза. При этом энергия, необходимая для синтеза глюкозы, сначала извлекается в результате разложения воды с помощью хлорофилла под действием солнечного света, далее запасается в молекулах АТФ и уж потом расходуется на связывание 6 молекул CO_2 в одну молекулу глюкозы.

ФОТОСИНТЕЗ: $6\ CO_2 + 6\ H_2O$ + световая энергия $\rightarrow C_6H_{12}O_6$ (глюкоза) + $6\ O_2$.

Так или иначе, автотрофные организмы синтезируют первичное органическое вещество, которое в дальнейшем передается по пищевым цепям к гетеротрофным организмам. Гетеротрофы, в свою очередь, синтезируют АТФ, поглощая и разлагая готовое органическое вещество, произведенное автотрофами. Главным образом, в реакциях энергетического обмена гетеротрофов расщепляется глюкоза, произведенная фотосинтетиками и входящая в состав биомассы зеленых растений.

Расщепление глюкозы может быть *анаэробным* (бескислородным), неглубоким. При этом высвобождается сравнительно мало энергии (Е) – ее хватает на синтез двух молекул АТФ за один цикл расщепления молекулы глюкозы. Пути анаэробного расщепления глюкозы – это *гликолиз, молочнокислое, спиртовое* и другие виды *брожения*. Эти реакции осуществляются в цитоплазме животных клеток как начальный этап энергообмена, а также являются основным источником энергии для анаэробных бактерий (например, молочнокислых) и некоторых грибов (дрожжей).

ГЛИКОЛИЗ: $C_6H_{12}O_6$ (глюкоза) $\rightarrow 2\ C_3H_4O_3$ (пировиноградная кислота) + $2\ H_2$ + Е (2 АТФ).

МОЛОЧНОКИСЛОЕ БРОЖЕНИЕ: $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2\ C_3H_6O_3$ (молочная кислота) + Е (2 АТФ).

СПИРТОВОЕ БРОЖЕНИЕ: $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2\ C_2H_5OH$ (этиловый спирт) + $2\ CO_2$ + Е (2 АТФ).

Максимальный энергетический выход получается при полном, *аэробном* (с участием кислорода) расщеплении органических кислот, полученных из глюкозы, жиров, белков, до неорганических предшественников – CO_2 и H_2O. Этот процесс называется *дыханием* и осуществляется в митохондриях. Аэробное расщепление органики в митохондриях является основным источником энергии для подавляющего большинства эукариотических клеток, в том числе и растительных. Энергии, выделившейся за один цикл полного превращения глюкозы (с учетом энергии, полученной при гликолизе), хватает на синтез 38 молекул АТФ, что многократно превосходит эффективность анаэробных процессов.

ГЛИКОЛИЗ + ДЫХАНИЕ: $C_6H_{12}O_6$ (глюкоза) + $6\ O_2 \rightarrow 6\ CO_2 + 6\ H_2O$ + Е (38 АТФ).

4.2. Строение митохондрий и пластид

Органоиды энергетического обмена – митохондрии и хлоропласты – имеют принципиально одинаковое строение, обусловленное единым механизмом синтеза АТФ в ходе дыхания и фотосинтеза (несмотря на прямо противоположные формулы этих процессов, см. выше). Общим в строении этих органоидов является то, что они отделены от цитоплазмы двумя мембранами – внешней и внутренней, т.е. являются двухмембранными органоидами.

Рассмотрим ультраструктуру ***митохондрий***. Основной рабочей поверхностью митохондрии является ее внутренняя мембрана, образующая складки, впячивания, называемые *кристами* (рис. 60). Кристы обычно не полностью перегораживают полость митохондрии и не нарушают непрерывности заполняющего её внутреннего содержимого – *матрикса*. Таким образом, внутри митохондрии различается два замкнутых, изолированных друг от друга пространства – *межмембранное пространство* и внутреннее пространство,

занятое матриксом. Варианты строения крист митохондрий приведены на рис. 61. В матриксе митохондрий располагается нуклеоид митохондриальной ДНК и митохондриальные рибосомы. Наличие собственного генетического и пластического аппарата позволяет митохондриям самостоятельно кодировать и синтезировать некоторые из своих белков (хотя и не все), а также самовоспроизводиться путем деления; за это митохондрии получили статус *полуавтономных органоидов*.

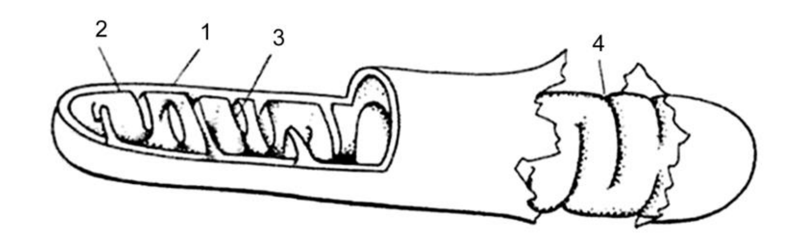


Рис. 60. Схема общей организации митохондрии (по: Ченцов, 2004). 1 – внешняя мембрана; 2 – внутренняя мембрана; 3 – впячивания внутренней мембраны – кристы; 4 – места впячиваний, вид с поверхности внутренней мембраны.

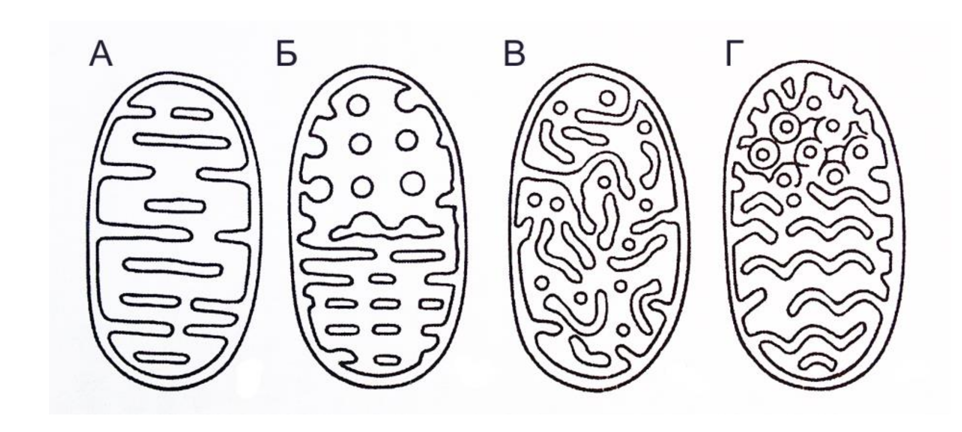
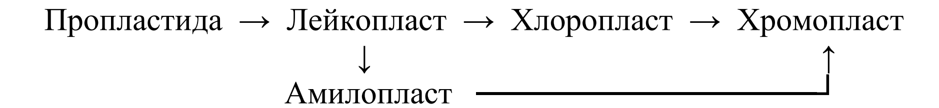


Рис. 61. Варианты строения крист митохондрий (по: Ченцов, 2004). А – пластинчатые кристы (печень); Б – перфорированные кристы (летательная мышца мухи); В – трубчатые кристы; Г – волнистые кристы (амеба).

Основная функция митохондрий – окисление органических соединений и использование освобождающейся энергии для синтеза молекул АТФ. Именно поэтому митохондрии принято называть «энергетическими станциями» клетки. Совокупность всех митохондрий клетки обозначается как *хондриом*. Число и форма митохондрий различаются в разных типах клеток. Особенно много их содержится там, где энергетические затраты наиболее велики, – например, в мышечных клетках (рис. 62). Вместо одиночных разрозненных митохондрий такая клетка может содержать одну гигантскую разветвлённую митохондрию – *митохондриальный ретикулум* (рис. 63).

Сходная двухмембранная организация наблюдается и у ***пластид*** растительных клеток, разновидностью которых являются *хлоропласты*. Все виды пластид формируются из общих предшественников – *пропластид*. Процесс формирования и взаимопревращения различных пластид можно представить в виде следующего ряда:



У *лейкопластов* нет хлорофилла, *ламеллярная система* (выросты внутренней мембраны) развита слабо и не упорядочена. Встречаются они в клетках запасающих тканей. В темноте лейкопласты способны накапливать про запас различные питательные вещества. В некоторых тканях накопление углеводов приводит к превращению лейкопластов в *амилопласты*, внутреннее пространство которых, *строма*, сплошь заполняется гранулами крахмала. *Хромопласты* представляют собой окрашенные пластиды, обычно имеющие жёлтый или красный цвет в результате накопления пигментов *каротиноидов*. Хромопласты образуются чаще всего из хлоропластов, что легко наблюдать при развитии плодов и изменении цвета стареющих листьев. При этом в пластидах могут накапливаться окрашенные липидные капли, образующиеся из разрушенных ламелл хлоропластов. Таким образом, хромопласты представляют собой дегенерирующие формы пластид.

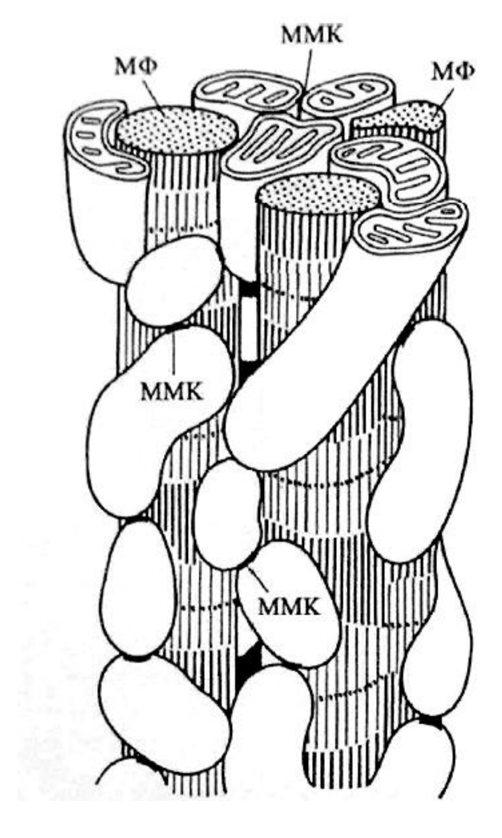


Рис. 62. Схема расположения митохондрий в клетке сердечной мышцы (по: Ченцов, 2004). ММК – межмитохондриальные контакты; МФ – миофибриллы.

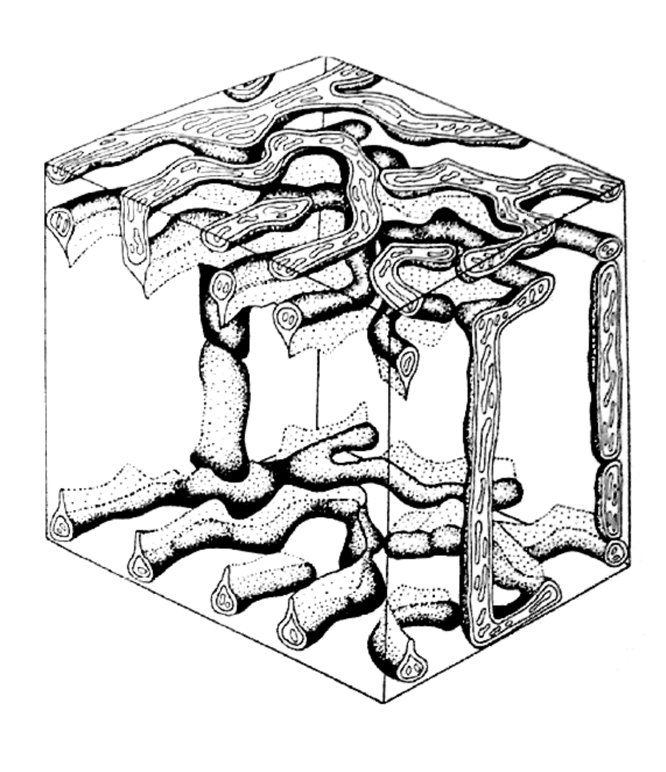


Рис. 63. Схема трёхмерной организации митохондриального ретикулума в скелетной мышце (по: Ченцов, 2004).

Подробнее остановимся на ультраструктуре *хлоропластов*, поскольку именно этот тип пластид осуществляет энергетический метаболизм. Строение хлоропласта сходно со строением митохондрии (рис. 64, а). Две мембраны – наружная и внутренняя – создают внутри органоида два изолированных пространства – межмембранное пространство и строму. При этом плоские, протяженные выросты внутренней мембраны, *ламеллы*, могут отпочковываться и образовывать плоские дисковидные вакуоли, погруженные в строму, – *тилакоиды*. Таким образом, полость тилакоида по происхождению является производным межмембранного пространства, а мембрана тилакоида представляет собой обособившийся участок внутренней мембраны хлоропласта. Обычно ламеллы в строме хлоропласта располагаются параллельно друг другу и не имеют связей между собой. Тилакоиды же образуют стопки наподобие столбика монет, называемые *гранами*. Во внутреннюю мембрану хлоропластов и в мембраны тилакоидов встроены молекулы хлорофилла – зеленого пигмента, непосредственно участвующего в начальных стадиях фотосинтеза (рис. 65). В

строме хлоропластов, так же, как и в матриксе митохондрий, обнаруживаются молекулы ДНК и рибосомы; там же происходит первичное отложение запасного полисахарида – крахмала в виде крахмальных зёрен.

Сходная организация митохондрий и пластид, а также наличие у них собственной ДНК и аппарата белкового синтеза, позволяет предполагать их аналогичное происхождение в процессе эволюции клетки. Согласно одной из гипотез, эти органоиды – бывшие самостоятельные прокариотные клетки, поселившиеся в других клетках в результате симбиоза. Обеспечивая клетку-хозяина более совершенным механизмом энергообмена, они взамен получали защиту и питание. Однако к настоящему времени геном митохондрий и пластид крайне выродился и сохранил лишь небольшую часть исходных генов, что не позволяет этим органоидам существовать независимо.

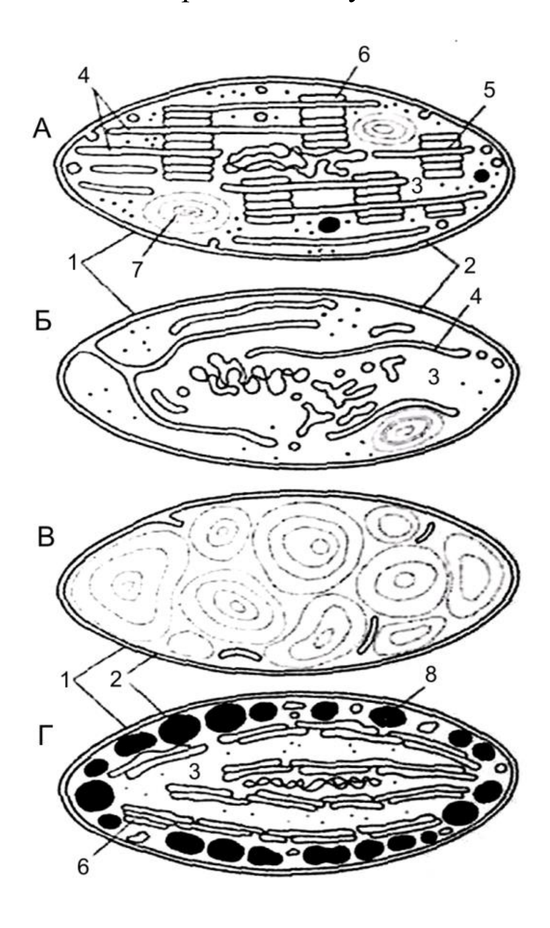


Рис. 64. Строение хлоропласта (А), лейкопласта (Б), амилопласта (В) и хромопласта (Г). 1 – внешняя мембрана; 2 – внутренняя мембрана; 3 – матрикс (строма); 4 – ламеллы стромы; 5 – грана; 6 – тилакоид; 7 – крахмальное зерно; 8 – липидная капля с пигментами (по: Ченцов, 2004).

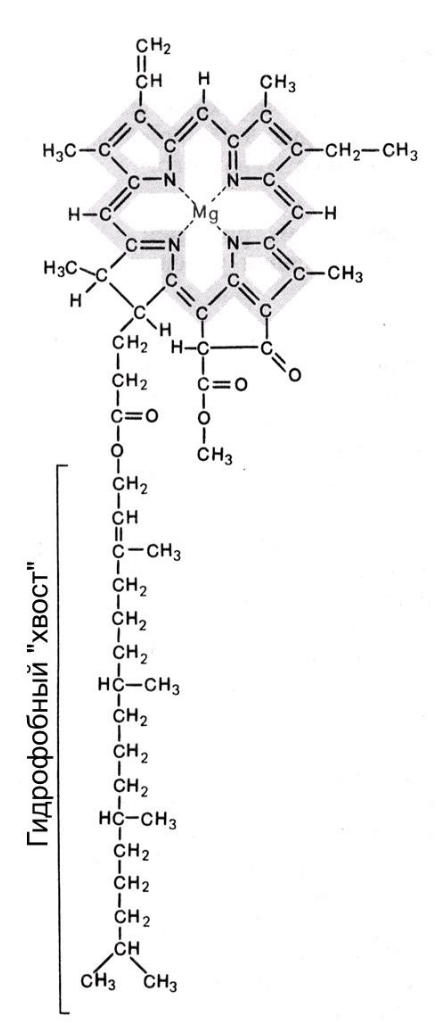


Рис. 65. Структура хлорофилла (по: Албертс и др., 1994). Затенена система сопряжённых двойных связей.

4.3. Механизмы синтеза АТФ в процессах дыхания и фотосинтеза

Как уже упоминалось, механизмы синтеза АТФ при дыхании и фотосинтезе принципиально сходны. Они связаны с поэтапной трансформацией внешней энергии в структурах двухмембранного органоида. Разберем оба процесса.

4.3.1. Дыхание

Количество энергии, заключённой в связях глюкозы, составляет около 2850 кДж на 1 моль. Однако высвобождается эта энергия не сразу, а поэтапно.

Начальный этап окисления углеводов – гликолиз – происходит в гиалоплазме и не требует участия кислорода; это анаэробный процесс. В результате гликолиза шестиуглеродный сахар глюкоза ($C_6H_{12}O_6$) распадается до *трикарбоновых* (трехуглеродных) органических кислот. Обычно конечным продуктом гликолиза выступает *ПВК – пировиноградная кислота* ($C_3H_4O_3$) и водород (см. 4.1). При этом на запуск реакции (на работу ферментов гликолиза) расходуется 2 молекулы АТФ, а взамен синтезируется 4 молекулы, так что общий энергетический выход составляет 2 молекулы АТФ от расщепления 1 молекулы глюкозы. В результате утилизируется лишь около 3 % энергии химических связей глюкозы.

Для дальнейшего, аэробного, окисления продуктов гликолиза процесс переносится в митохондрии, где пировиноградная кислота расщепляется до воды и углекислого газа с образованием большого количества АТФ (36 молекул). Этот процесс разложен на ряд стадий. Сначала в матриксе митохондрий ПВК вступает в *цикл Кребса* – цикл взаимопревращения трикарбоновых кислот, в результате которого выделяются углекислый газ (CO_2) и водород, разложенный на электроны (e^-) и протоны (H^+). Все эти превращения пока не требуют участия кислорода. Освободившиеся электроны и протоны временно переносятся на акцепторные молекулы кофермента *НАД* (*никотинамидадениндинуклеотид*), а далее вовлекаются в *цепь переноса электронов*, или *дыхательную цепь*.

Дыхательная цепь представляет собой ряд белковых комплексов, встроенных во внутреннюю мембрану митохондрий (рис. 66). Каждый такой комплекс является одновременно и ферментом, и транспортным каналом, соединяющим матрикс и межмембранное пространство. Богатый энергией электрон проходит по белкам дыхательной цепи и порционно отдает им свою энергию, которая используется белками на то, чтобы за один цикл работы перебросить один протон через мембрану, т.е. из матрикса митохондрии в межмембранное пространство. В результате в межмембранном пространстве митохондрии накапливается относительно большее число положительных зарядов (H^+), а в матриксе скапливаются отрицательно заряженные электроны (e^-). Такое накопление противоположных зарядов по обе стороны от внутренней мембраны приводит к созданию *разности потенциалов*. Когда разность потенциалов достигает определенного значения – 200 мВ (милливольт) – протоны единым потоком начинают возвращаться обратно в матрикс через специальный транспортно-ферментный белковый комплекс – *АТФ-синтетазу*, называемую также *грибовидным телом*. Такие грибовидные тела в большом количестве встроены во внутреннюю мембрану митохондрий, придавая ей шероховатый вид.

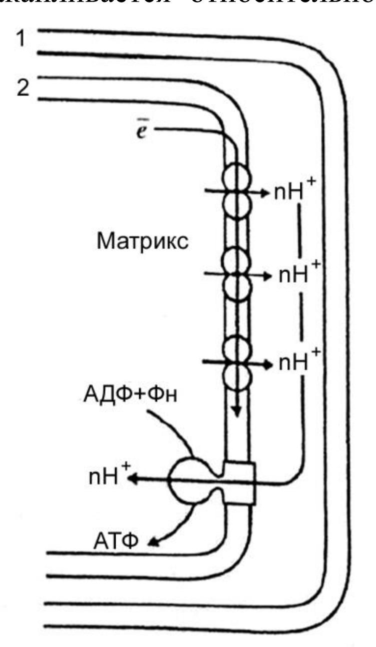


Рис. 66. Общая схема окислительного фосфорилирования по П. Митчеллу (по: Ченцов, 2004). При переносе электронов по цепи окисления протоны накапливаются в межмембранном пространстве и при достижении определенного потенциала возвращаются в матрикс, при этом на АТФ-синтетазном комплексе происходит синтез АТФ. 1 – внешняя мембрана; 2 – внутренняя мембрана; Фн – неорганический фосфат.

АТФ-синтетаза под действием протонного тока возбуждается и синтезирует АТФ путем фосфорилирования АДФ (см. рис. 66). Затем, отработавшие протоны и электроны захватываются кислородом, в результате чего образуется вода. Поскольку синтез АТФ в митохондриях сопряжен с реакциями поэтапного окисления продуктов гликолиза (передача

электрона по белкам дыхательной цепи, а, в конечном счете, на кислород), процесс соединения АДФ и фосфорного остатка с участием фермента АТФ-синтетазы называют *окислительным фосфорилированием*. В результате окислительного фосфорилирования образуется 36 молекул АТФ, что в совокупности с энергетической продукцией гликолиза (2 молекулы АТФ) дает суммарный выход в размере 38 молекул АТФ за один цикл превращения молекулы глюкозы.

4.3.2. Фотосинтез

Процесс фотосинтеза, осуществляемый в хлоропластах, приводит в конечном итоге к синтезу органического вещества глюкозы из неорганических субстратов – воды и углекислого газа – и выделению кислорода. Напомним суммарную реакцию фотосинтеза:

$$6\ CO_2 + 6\ H_2O + \text{световая энергия} \rightarrow C_6H_{12}O_6\ (\text{глюкоза}) + 6\ O_2.$$

Таким образом, реакция фотосинтеза имеет прямое отношения к пластическому метаболизму. Однако прежде чем заниматься производством глюкозы, растительной клетке необходимо синтезировать запас АТФ, который и будет обеспечивать протекание этого энергозависимого процесса. Поэтому фотосинтез включает в себя две фазы – *световую* (энергетическую) и *темновую* (пластическую).

В ходе ***световой фазы*** под действием солнечного света осуществляется процесс *фотофосфорилирования* – синтез АТФ из АДФ и фосфата с использованием цепи переноса электронов и АТФ-синтетазы. Световая фаза начинается с *фотолиза* воды – инициированного светом распада воды на кислород и водород, который происходит в строме хлоропласта. Кислород диффундирует во внешнюю среду, а водород распадается на протоны и электроны. Параллельно с этим энергия света возбуждает электроны зелёного пигмента хлорофилла (см. рис. 65), расположенного на мембранах тилакоидов (т.е. на внутренних мембранах хлоропласта), что приводит к изменению в структуре молекул хлорофилла. Возбуждённые электроны «выбиваются» из молекулы хлорофилла (образовавшиеся «дырки» в молекуле заполняются электронами из водорода) и переносятся по компонентам окислительной цепи в мембранах тилакоидов (аналог дыхательной цепи митохондрий), поэтапно отдавая им свою энергию. Затем, так же, как в митохондриях, происходит перекачка протонов водорода в межмембранное пространство (в полость тилакоида), накопление протонного потенциала (200 мВ) на мембранах тилакоидов (на внутренней мембране хлоропласта), создание протонного тока через грибовидные тела и синтез АТФ (см. рис. 66). Отработавшие протоны связываются с молекулами кофермента *НАДФ (никотинамидадениндинуклеотидфосфат)* – в результате образуются восстановленные формы кофермента $НАДФН_2$.

СВЕТОВАЯ ФАЗА: $12H_2O + \text{квант света} \rightarrow 6O_2 + 24H^*$

$$24H^* + 12НАДФ + n(АДФ + Ф) \rightarrow 12НАДФН_2 + nАТФ$$

В ***темновой фазе*** фотосинтеза за счёт полученной энергии АТФ осуществляется связывание атмосферного CO_2 с отработавшим в световой фазе водородом (соединенным с коферментом НАДФ) и образование углеводов (глюкозы). Процесс фиксации CO_2 и образования углеводов происходит в строме хлоропластов и состоит из множества этапов, в которых участвует большое число ферментов (*цикл Кальвина*). Для синтеза одной молекулы глюкозы в цикле Кальвина требуется 6 молекул CO_2, 12 молекул $НАДФН_2$ и 12 молекул АТФ.

ТЕМНОВАЯ ФАЗА:

$$12НАДФН_2 + 6CO_2 + 12АТФ \rightarrow C_6H_{12}O_6 + 6H_2O + 12НАДФ + 12(АДФ + Ф)$$

Таким образом, несмотря на полную, по сути, противоположность формул дыхания и фотосинтеза, механизмы синтеза АТФ в митохондриях и хлоропластах принципиально схожи. И в том, и в другом случае внешняя энергия трансформируется сначала в энергию протонного потенциала, а затем – в энергию протонного тока, возбуждающего фермент АТФ-синтетазу. Создание разности потенциалов становится возможным благодаря наличию двух мембран – внешней и внутренней, и, как следствие, двух изолированных компартментов для накопления разноименных зарядов. И в том, и в другом случае для создания протонов используется водород. По большому счету, различие между двумя процессами заключается в источнике водорода, – при фотосинтезе водород извлекается из *неорганического* соединения – воды, а при дыхании – из *органического* углеродсодержащего вещества глюкозы. Соответственно, разнятся и побочные продукты реакций: в первом случае это O_2, а во втором – CO_2. Непосредственно стадией энергетического обмена в фотосинтезе выступает световая фаза – ее результатом является синтез АТФ при инициирующем воздействии солнечного света. Темновая фаза представляет собой стадию пластического обмена, в это время происходит синтез первичного органического вещества и трансформация всех перечисленных видов энергии (солнечный свет, протонный потенциал, протонный ток) в химические связи глюкозы. Первичное органическое вещество, произведенное автотрофами, теперь становится единственно возможным источником внешней энергии для всех остальных живых организмов, неспособных непосредственно использовать энергию света.

Тема 5. Опорно-двигательный аппарат клетки, или цитоскелет

5.1. Общая характеристика опорно-двигательного аппарата

Движение – одно из основных свойств живого. Движутся органоиды в клетке; движутся и сокращаются целые клетки; движутся организмы.

Движение невозможно без опоры (мышцы, сокращаясь, приводят организм в движение только будучи прикрепленными к костям). В клетке есть свои внутриклеточные «кости» и «мышцы» – *цитоскелет*. Элементы цитоскелета, как двигательные, так и чисто опорные, построены из белков. По сути, все формы движения основаны на способности некоторых белков сокращаться – обратимо менять свою конформацию (третичную структуру) за счет энергии расщепления АТФ. Таким образом, движение – это энергозависимый процесс.

Выделяют три типа опорно-двигательных структур клетки: *промежуточные филаменты*, *микрофиламенты* и *микротрубочки*.

5.2. Промежуточные филаменты

Промежуточные филаменты строятся из фибриллярных мономерных белков. Они имеют толщину 8-10 нм, пронизывают всю клетку, образуя систему наподобие каркаса, функционально связанную с системой микротрубочек (см. ниже); при разрушении системы микротрубочек распадается и система промежуточных филаментов.

Белки промежуточных филаментов можно разделить на несколько типов:

1. *Кератины* – характерны для эпителиальных клеток, найдено около 30 форм. Выработка кератинов ведёт к *кератинизации* (*ороговению*) клеток эпителия и, в итоге, превращению их в роговые чешуи. Кератинизация эпителиальных клеток усиливает барьерно-защитную функцию кожных эпителиев высших позвоночных. В зависимости от степени ороговения (от интенсивности синтеза кератинов в клетках)

выделяют *мягкую* и *жесткую кератинизацию*. Так, эпидермис кожи человека – пример мягкой кератинизации, а волосы и ногти – пример жёсткой кератинизации.

2. *Виментин* – входит в состав цитоскелета клеток мезенхимного происхождения, например, клеток соединительной ткани и крови.
3. *Десмин* – присутствует в мышечных клетках.
4. *Глиальный фибриллярный белок* – входит в состав цитоскелета клеток нейроглии.
5. *Периферин* – входит в состав цитоскелета периферических и центральных нейронов.
6. *Белки нейрофиламентов* – встречаются в аксонах нервных клеток.
7. *Белки ядерной ламины* – разновидность белков ядерного матрикса, формирующих ламину (см. выше).

Промежуточные филаменты способны образовывать *сополимеры* (смешанные полимеры, состоящие из нескольких разновидностей белков), например, комплексы виментина с десмином или виментина с глиальными белками. Белки промежуточных филаментов не обладают свойством сократимости, поэтому данные структуры являются чисто опорными, скелетными.

5.3. Микрофиламенты

В отличие от промежуточных филаментов, микрофиламенты представляют собой сложные надмолекулярные комплексы, в состав которых входят как опорные, так и сократительные белки. Это позволяет микрофиламентам выполнять опорно-двигательную функцию и обеспечивать механизм мышечного сокращения. Микрофиламенты входят в состав *миофибрилл* мышечных клеток, а также образуют правильную гексагональную сеть в цитоплазме немышечных клеток – так называемые *стресс-фибриллы*, сокращение которых приводит к амебоидному движению клеток.

Разберем молекулярную структуру микрофиламента. Основной белок системы микрофиламентов – *актин*. В мономерной форме молекула актина представляет собой глобулярный белок (*G-актин*). Фибриллярная (нитчатая) форма актина (*F-актин*) образуется путем самосборки молекул глобулярного актина в спиральную ленту толщиной 6-7 нм (рис. 67). Самосборка (полимеризация) начинается при достаточной концентрации молекул актина. При этом актиновая фибрилла обладает полярностью в отношении процесса полимеризации – в ней можно выделить «+»-конец и «-»-конец. На «+»-конце полимеризация преобладает над деполимеризацией, а на «-» конце, наоборот, деполимеризация преобладает над полимеризацией (рис. 68). Таким образом, актиновый филамент растет со стороны «+»-конца, а со стороны «-»-конца убывает.

Полимеризация актина носит обратимый характер. Благодаря обратимым изменениям концентрации G- и F-форм меняется и вязкость цитоплазмы: преобладание G-актина соответствует более жидкой ее консистенции (*золь*), а преобладание F-актина – более вязкой (*гель*). Кроме того, в клетке нити актина стабилизируются массой специфических белков, ассоциированных с F-актином. Так, *тропомиозин* придаёт микрофиламентам жёсткость, *фимбрин* связывает филаменты в пучки, *филамин* и *альфа-актинин* образуют поперечные скрепки между микрофиламентами, создавая сложную трёхмерную сеть, которая и придает цитоплазме гелеобразное состояние (рис. 69).

Как уже упоминалось, микрофиламенты пронизывают всю клетку (рис. 70 и 71), образуя особенно густую сеть в *кортикальном* слое цитоплазмы (под плазматической мембраной) – *кортикальный цитоскелет*. Эта сеть стабилизирует форму клетки. Один из механизмов движения псевдоподий амебоидной клетки заключается в том, что в месте выпячивания псевдоподий сеть микрофиламентов разбирается, цитоплазма разжижается и начинает натекать на плазматическую мембрану, после чего этот «натёк» стабилизируется восстановлением кортикальной сети микрофиламентов. Надстраивающаяся сеть микрофиламентов может также прогибать плазматическую мембрану, образуя её выпячивания – тонкие *филоподии* и более широкие *ламеллоподии*. Клетка крепится к субстрату при помощи специальных клеточных контактов – *фокальных контактов*.

Прикрепляясь к субстрату, клетка генерирует механическое натяжение, – если поместить клетку на достаточно легко деформируемый субстрат, последний будет прогибаться с образованием складок. Механическое натяжение создается пучками актиновых филаментов – стресс-фибриллами, заякоренными с одной стороны на фокальные контакты, а с другой – на соседние стресс-фибриллы и, таким образом, пронизывающими весь объем клетки (рис. 70 и 71).



Рис. 67. Компьютерная реконструкция актиновых фибрилл (по: Албертс и др., 1994).

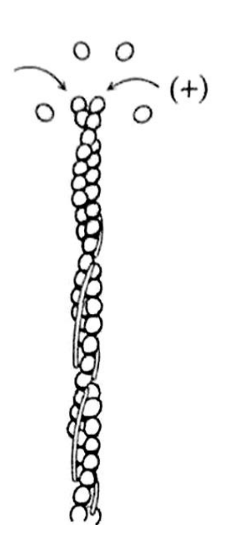


Рис. 68. Полимеризация актинового микрофиламента (по: Ченцов, 2004). На «+» конце филамента включение мономерного актина происходит быстрее.

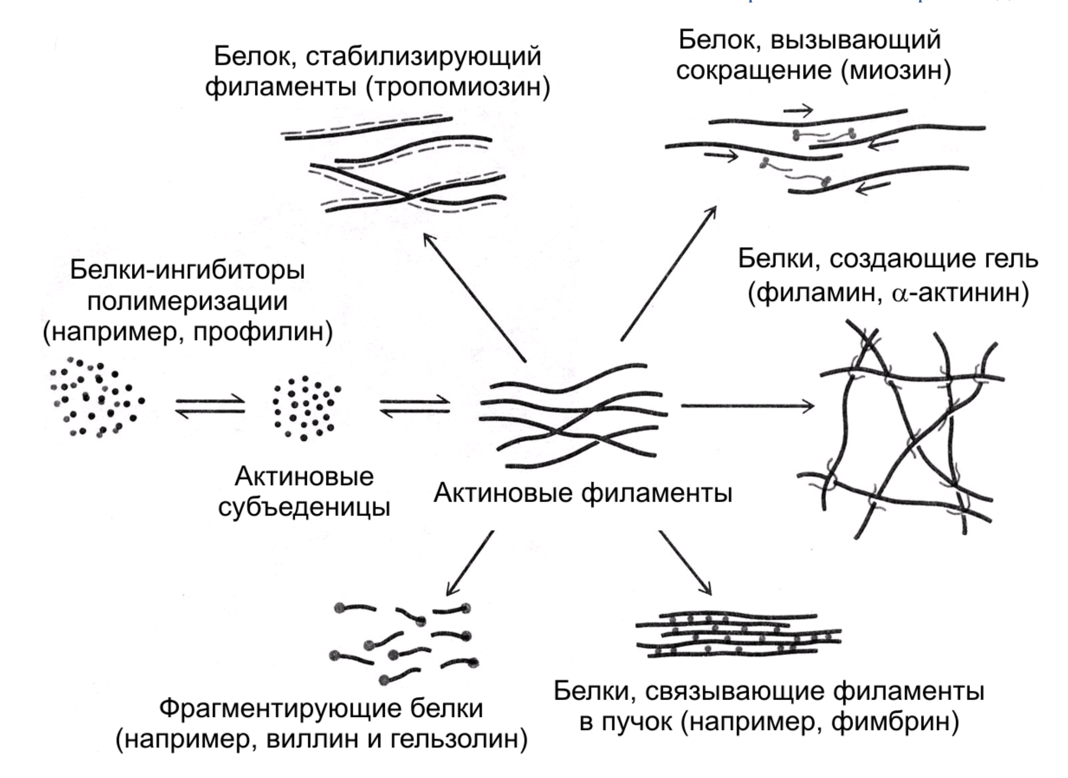


Рис. 69. Упрощённая схема различных изменений в структурном состоянии актина, обусловленных взаимодействием его со специфическими белками (по: Албертс и др., 1994).

Самый главный сопутствующий актиновым филаментам белок – *миозин*. Если связь с другими белками позволяла актину выполнять преимущественно функцию скелетного белка, то в ассоциации с миозином актин участвует в движении.

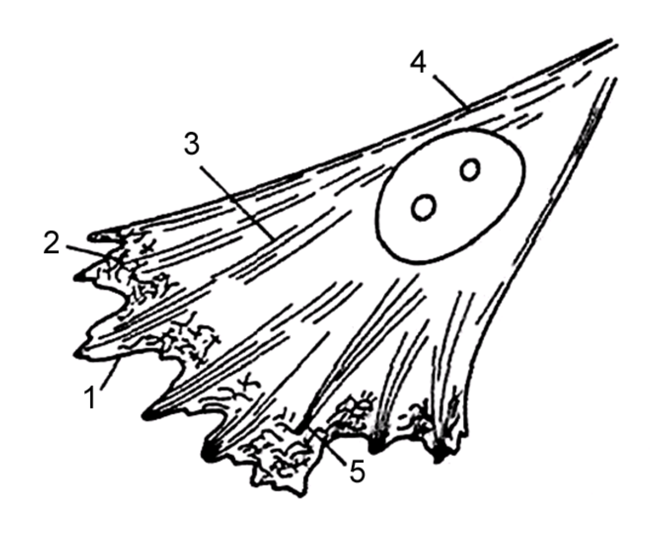


Рис. 70. Микрофиламенты движущейся клетки (фибробласта) (по: Ченцов, 2004). 1 – ламеллоподии движущегося края; 2, 4 – кортикальная сеть актиновых филаментов: на движущемся крае сеть гуще и более структурирована; 3 – стресс-фибриллы; 5 – фокальный контакт.

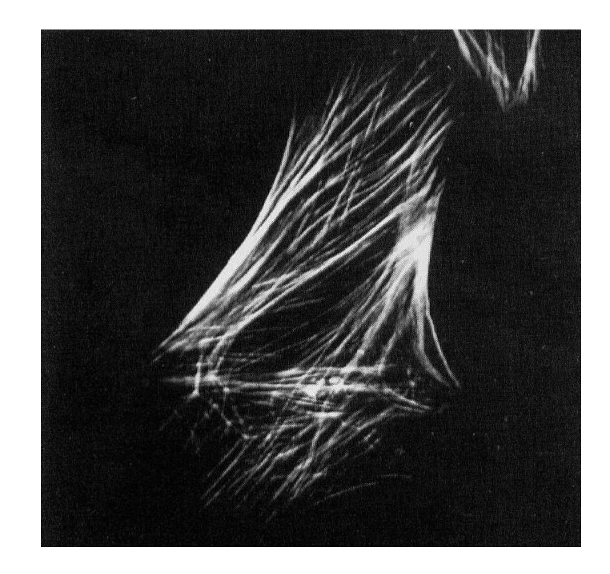


Рис. 71. Микрофиламенты, организованные в стресс-фибриллы. Конфокальная сканирующая лазерная микроскопия. Окраска специфичным флуоресцентным красителем (по: Ченцов, 2004).

Молекула миозина состоит из двух головок (*тяжелый меромиозин*) и двух переплетённых хвостиков (*легкий меромиозин*) (рис. 72, а). Особенностью миозина является его способность расщеплять АТФ и за счет освободившейся энергии обратимо менять свою конформацию (третичную структуру); при этом головка миозина меняет угол наклона по отношению к хвостику. Взаимодействуя с актиновыми микрофибриллами, миозин участвует и в амебоидном движении клетки, и в движении органоидов клетки, и в колебании микроворсинок, и в сокращении миофибрилл мышечных клеток.

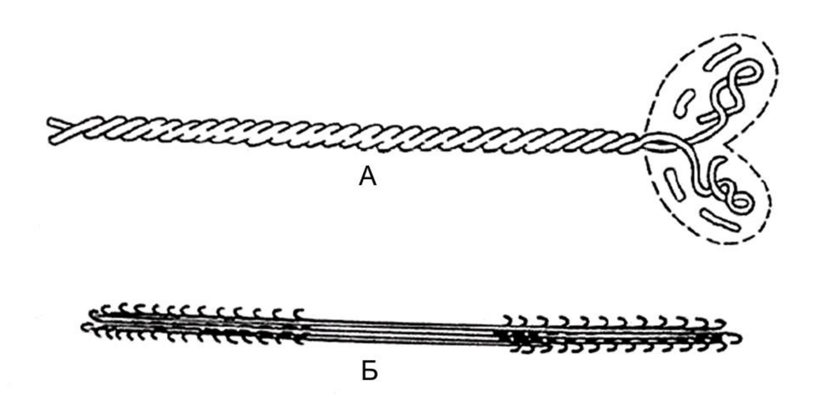


Рис. 72. Молекула миозина (А) и миозиновый филамент (Б) (по: Ченцов, 2004).

Разберём строение актин-миозинового комплекса в поперечно-полосатых (скелетных) мышцах. Скелетные мышцы позвоночных животных состоят не из отдельных клеток, а из *мышечных волокон*, каждое из которых представляет собой *симпласт*, образовавшийся за счёт слияния многих мышечных клеток. Объединенная цитоплазма мышечного волокна содержит большое количество сократимых нитей – *миофибрилл*. В миофибриллах, в свою очередь, имеются тонкие нити – *актиновые микрофиламенты*, и толстые нити – *миозиновые филаменты*. Каждый миозиновый филамент состоит из двух разнонаправленных пучков миозиновых молекул, переплетенных своими хвостиками (рис. 72, б). Миозин имеет свойство обратимо связываться с помощью своих головок с актиновыми нитями и подтягивать их за счет изменения угла наклона головки, как было описано выше (рис. 73).

Затем головка на короткий миг отцепляется от актина и делает «шажок»; при этом угол между головкой и хвостиком молекулы принимает исходную величину, но место прикрепления головки к актиновому филаменту меняется за счет совершившегося перемещения. Конечно, шаг миозиновой головки очень мал, и ей необходимо сделать тысячи «шажков», чтобы переместить актиновые нити на достаточную длину.

При организации миофибриллы каждый миозиновый филамент реагирует с помощью своих головок с двумя пучками актиновых микрофиламентов (по шесть актиновых фибрилл в каждом пучке) (рис. 74, а). Так образуется элементарная сократительная единица, при сокращении которой миозиновый филамент как бы «втискивается» между актиновыми филаментами, сдвигая их навстречу друг другу (рис. 74, б). Если расположить в ряд большое количество таких элементарных конструкций, соединив их специальными белками, то и получится миофибрилла.

Актиновые и миозиновые нити расположены в миофибрилле очень упорядоченно. Эта упорядоченность сохраняется и во всем мышечном волокне, в цитоплазме которого миофибриллы располагаются параллельно друг другу. Благодаря тому, что одноименные белки разных миофибрилл располагаются строго друг под другом (актин под актином, а миозин под миозином), в толще волокна формируются целые актиновые и миозиновые зоны. Эти зоны имеют различную оптическую плотность: зона актиновых филаментов самая светлая (так как эти филаменты тоньше других), зона миозиновых филаментов значительно темнее, а зона перекрытия актиновых и миозиновых нитей особенно непрозрачна. Эти полосы различной оптической плотности располагаются поперёк хода самого мышечного волокна, что придает волокну поперечно-полосатую исчерченность (рис. 75, а). Светлые полоски, соответствующие актину, называют *изотропными дисками* (*I-дисками*), темные, соответствующие миозину, – *анизотропными дисками* (*А-дисками*). Единицей сокращения мышечного волокна является *саркомер* – фрагмент, включающий в себя один А-диск и две половинки I-дисков (рис. 75, б). Границы саркомера, таким образом, определяются двумя *z-полосками*, образованными белком *альфа-актинином*, который связывает между собой актиновые филаменты соседствующих саркомеров. В результате синхронной работы миозиновых головок всех саркомеров происходит единовременное сокращение всего мышечного волокна.

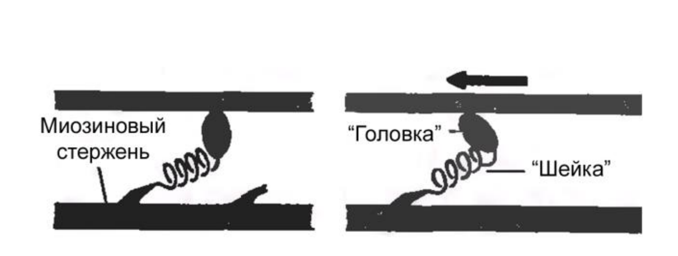



Рис. 73. Схема движения миозиновой головки, тянущей актиновую фибриллу (по: Албертс и др., 1994).

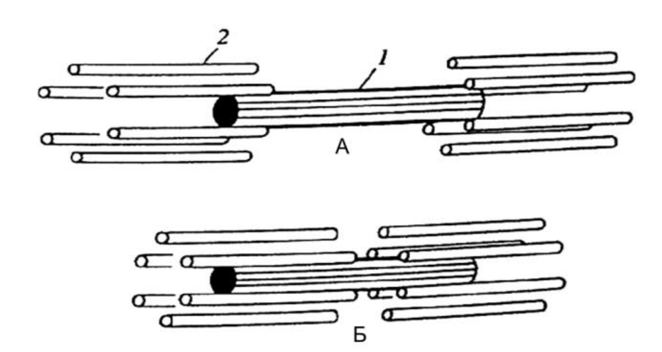


Рис. 74. Схема сокращения участка миофибриллы поперечно-полосатого мышечного волокна за счёт взаимного скольжения нитей (по: Ченцов, 2004). А – расслабление; Б – сокращение. 1 – толстые нити (миозин); 2 – тонкие нити (актин).

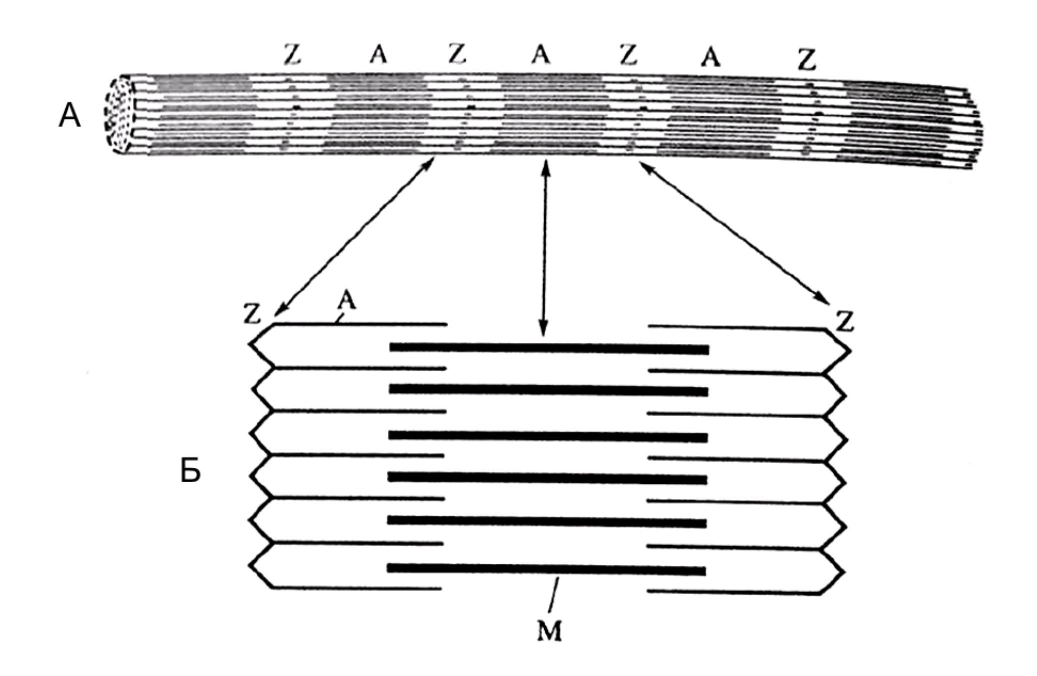


Рис. 75. Строение мышечного волокна поперечно-полосатой мышечной ткани (по: Ченцов, 2004). а – строение мышечного волокна: А – анизотропный диск (тёмный диск), Z – z-полоска; б – схема строения саркомера: А – актиновые фибриллы, М – миозиновые фибриллы, Z – диск, содержащий белок альфа-актинин, связывающий соседние саркомеры друг с другом.

В гладких мышцах тоже есть актиновые и миозиновые филаменты, но их расположение отличается от правильной организации, характерной для поперечно-полосатых мышц. Саркомеры в гладкомышечных клетках образуются только в момент сокращения; в состоянии же покоя актин-миозиновые комплексы формируют в цитоплазме отдельные разрозненные пучки, а белок альфа-актинин, скрепляющий саркомеры между собой, образует скопления в виде плотных телец (рис. 76).

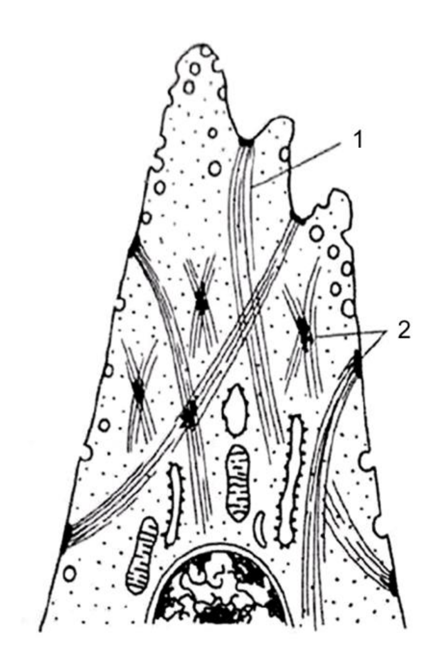


Рис. 76. Схема гладкомышечной клетки (по: Ченцов, 2004). 1 – актомиозиновые пучки; 2 – плотные примембранные и цитоплазматические тельца.

5.4. Микротрубочки

Микротрубочки представляют собой полые цилиндры диаметром 22 нм, построенные из глобулярного белка *тубулина*. Существует две разновидности тубулина – *альфа-* и *бета-тубулин*. Одна глобула альфа-тубулина и одна глобула бета-тубулина объединяются в *димер,* а димеры, в свою очередь, полимеризуются с образованием микротрубочки (рис. 77).

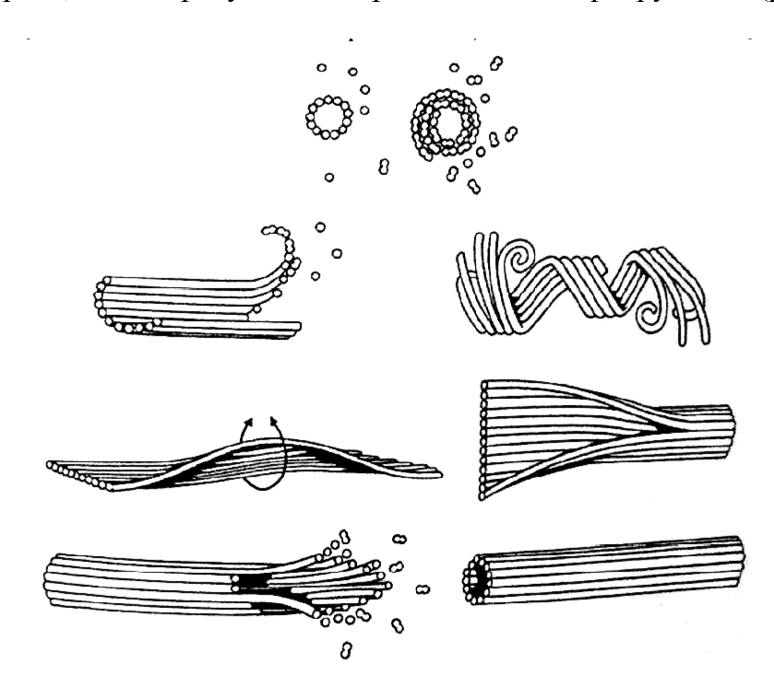


Рис. 77. Стадии самосборки микротрубочек (по: Ченцов, 2004).

Микротрубочки, как и актиновые микрофиламенты, представляют собой самособирающиеся, динамичные, полярные структуры. У микротрубочки имеется быстро растущий «+»-конец и медленно растущий или разбирающийся «-»-конец. В покоящейся клетке все микротрубочки подвергаются полной сборке-разборке каждые 15-20 минут, а в процессе деления клетки среднее время жизни микротрубочки – 30 секунд. В составе микротрубочек, помимо тубулина, обнаруживается ряд ассоциированных с ними белков – так называемые *МАР-белки* (*microtubule associated proteins*). Эти белки связываются либо с «+»-концами, либо с «-»-концами микротрубочек, блокируя, таким образом, процессы сборки или разборки соответственно.

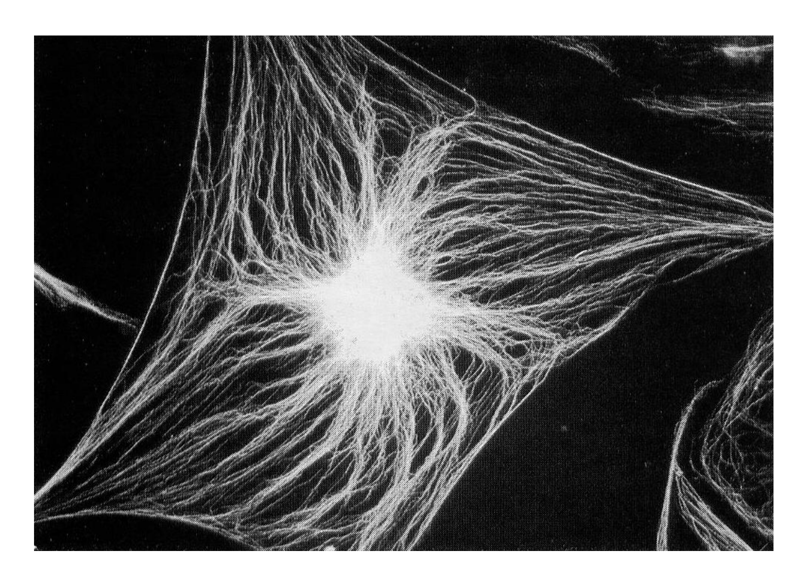


Рис. 78. Микрофотография микротрубочек клетки, окрашенных специфичным к микротрубочкам флуоресцентным красителем (по: Ченцов, 2004).

Система микротрубочек (рис. 78), как и система микрофиламентов, выполняет в клетке скелетную (опорную) и двигательную функции. Опорная функция заключается в том, что микротрубочки стабилизируют форму клетки, образуя ее радиальный скелет – *астросферу*. Двигательная функция состоит в образовании комплексов микротрубочек со специальными сократительными белками, способными приводить в движение клеточные компоненты.

Основные двигательные белки, ассоциированные с системой микротрубочек, – это *динеин* и *кинезин*. Они состоят из двух тяжёлых белковых цепей и нескольких лёгких. Двигательные белки могут связываться с одной стороны с мембранами органоидов или другими внутриклеточными структурами, а с другой стороны – с микротрубочкой. Изменяя свою конформацию при расщеплении АТФ, белок «шагает» по микротрубочке, перенося за собой связанный органоид (рис. 79). Кинезин перемещается по микротрубочке в направлении к «+»-концу, динеин – к «-»-концу. Таким образом, в клетке по системе микротрубочек, как по рельсам, осуществляется массовый перенос различных внутриклеточных компонентов – органоидов, вакуолей, хромосом и др. В клетке существует множество специфических модификаций двигательных белков, участвующих в переносе строго определённых типов структур.

Движение *жгутиков* и *ресничек* в эукариотической клетки также основано на функционировании системы микротрубочек при ее взаимодействии с двигательными белками, а именно, с динеином. Ресничка (или жгутик) представляет собой вырост плазматической мембраны, центральный скелет которого – *аксонема* – построен из микротрубочек, собранных в *дуплеты*. Схема расположения микротрубочек в аксонеме показана на рис. 80. В центре этого образования расположен центральный дуплет, а вокруг, по периметру реснички, располагаются ещё 9 дуплетов микротрубочек. Эти дуплеты соединены друг с другом так называемыми *динеиновыми ручками* (рис. 80). В момент движения реснички молекулы динеина меняют свою конформацию таким образом, что ручки вытягиваются, захватывают микротрубочку из соседнего дуплета и «бегут» по ней. В результате происходит «скольжение» дуплетов микротрубочек друг относительно друга, и ресничка изгибается. Следует добавить, что в основании реснички лежит *базальное тельце*, организация которого принципиально сходна с организацией самой реснички, только вместо дуплетов микротрубочек базальное тельце содержит их триплеты, а центральный дуплет совсем отсутствует. Таким образом, ресничка как бы является продолжением базального тельца, но с небольшими изменениями в организации системы микротрубочек.

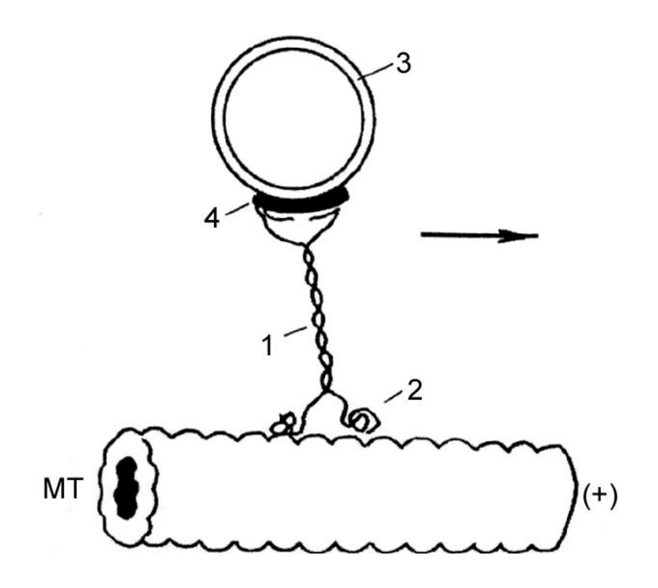


Рис. 79. Внутриклеточное перемещение вакуоли с помощью кинезина (по: Ченцов, 2004). 1 – тяжёлые цепи кинезина; 2 – лёгкие цепи кинезина; 3 – мембранный груз; 4 – кинектин (белок, с помощью которого мембранный органоид крепится к кинезину).

Итак, механизм работы тубулин-динеиновой двигательной системы жгутиков и ресничек принципиально сходен с механизмом актин-миозиновой системы в примерах, описанных выше. И в том, и в другом случае имеется структурный белок (актин или тубулин) и ассоциированный с ним двигательный белок (миозин или динеин), способный к сокращению за счет обратимого изменения своей третичной структуры под действием энергии расщепления АТФ.

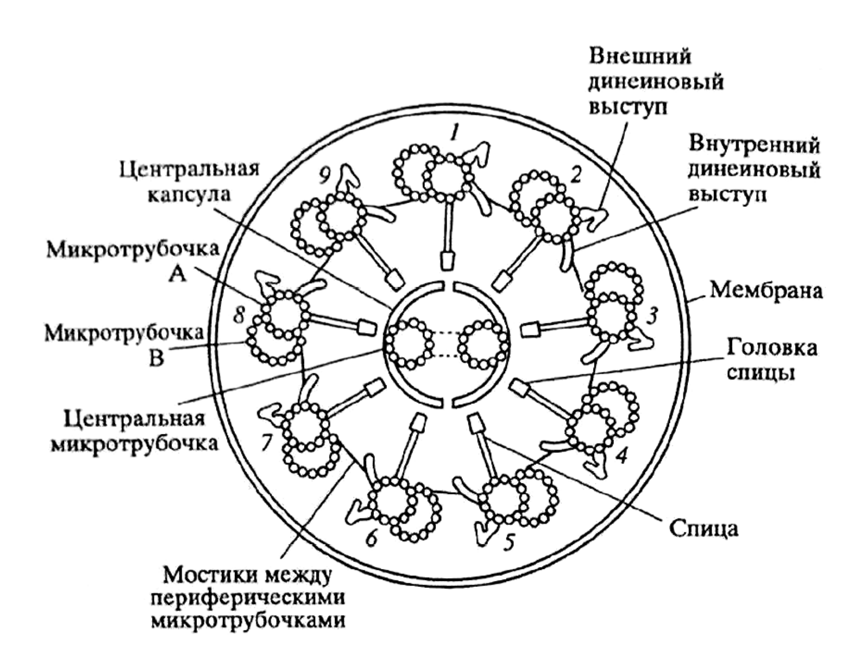


Рис. 80. Схема поперечного среза реснички (по: Ченцов, 2004).

5.5. Центр организации микротрубочек

Процесс полимеризации микротрубочек начинается в чётко ограниченных участках клетки, а именно – в *центрах организации микротрубочек (ЦОМТ)*, ещё называемых *клеточным центром*. В основе ЦОМТ лежат две *центриоли*. Эта пара называется *центросомой* или *диплосомой*. Центриоли действительно чаще всего располагаются в геометрическом центре клетки, и от них во всех направлениях отходят микротрубочки, образующие радиальный скелет клетки и поддерживающие ее форму. В зонах ЦОМТ осуществляется закладка микротрубочек, обращённых к клеточному центру «-»-концами. На центриолях «-»-концы микротрубочек заблокированы специальными белками, предотвращающими их разборку. Соответственно, «+»-концы микротрубочек обращены в цитоплазму и растут по направлению к периферии клетки.

Диплосома состоит из двух центриолей – материнской и дочерней. Каждая центриоль представляет собой полый цилиндр, образованный девятью триплетами микротрубочек. При делении клетки центриоли расходятся к полюсам и передаются по одной штуке в дочерние клетки. Затем каждая из них достраивает новую дочернюю центриоль. В качестве ЦОМТ в клетке функционирует лишь материнская центриоль, на которой располагаются особые образования – *сателлиты*, от которых и отходят микротрубочки (рис. 81).

Когда центриоли расходятся к полюсам делящейся клетки, бывшая дочерняя центриоль подвергается перестройке и приобретает сателлиты, – теперь она тоже может выступать в качестве клеточного центра. Микротрубочки, отрастающие теперь от обеих центриолей, направлены от полюсов к экватору и играют роль *веретена деления*. По микротрубочкам веретена с помощью особой формы динеина будут перемещаться хромосомы – от центра к полюсам клетки.

У ценриолей в клетке имеется еще одна важная функция – именно они выступают в качестве базальных телец ресничек и жгутиков (см. выше). Следует заметить, что центриоли отсутствуют в клетках голосеменных и цветковых растений. Это связано с тем, что у их

клеток жгутики или реснички не обнаруживаются ни на одной стадии жизненного цикла, в отличие от всех остальных высших растений, включая мхи и папоротники.

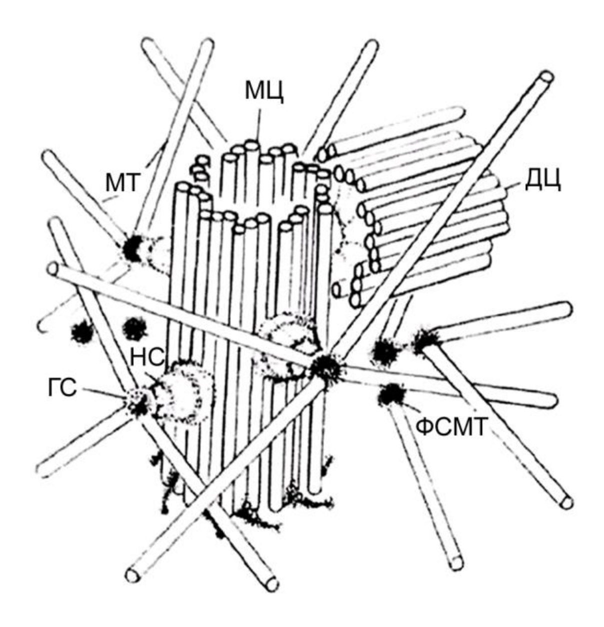


Рис. 81. Схема строения диплосомы (по: Ченцов, 2004). МЦ – материнская центриоль; ДЦ – дочерняя центриоль; НС – ножка сателлита; ГС – головка сателлита; МТ – микротрубочки; ФСМТ – фокусы схождения микротрубочек.

Тема 6. Гиалоплазма

Термины *гиалоплазма, основная плазма, матрикс цитоплазмы*, или *цитозоль* обозначают очень важную часть клетки, её истинную внутреннюю среду. Гиалоплазму можно получить, осадив из неё путем центрифугирования все тяжёлые компоненты вплоть до рибосом. Состав гиалоплазмы весьма сложен. В ней растворено большое количество аминокислот, нуклеотидов и других строительных компонентов биополимеров. Гиалоплазма содержит сбалансированный набор ионов неорганических соединений, концентрация которых строго детерминирована и регулируется мембранными компонентами клетки. Здесь локализованы многие ферменты, участвующие в метаболизме аминокислот, нуклеотидов, жирных кислот, сахаров. В гиалоплазме происходит синтез и отложение запасных полисахаридов (у животных это гликоген) и жировых капель; здесь же осуществляются процессы гликолиза; на свободных рибосомах синтезируется белок; модифицируются ферменты и осуществляется деградация молекул.

Консистенция гиалоплазмы приближается к гелю. Гель – это структурированная коллоидная система с жидко-дисперсной средой. Частицы дисперсной фазы соединены между собой в рыхлую пространственную сетку, которая лишает систему текучести в целом. Гель гиалоплазмы относится к *тиксотропным* гелям, которые под воздействием внешних (температура, давление) и внутренних (сборка–разборка актиновой сети) факторов могут менять своё агрегатное состояние и переходить в более жидкую фазу – золь (раствор). Такие переходы из геля в золь и обратно очень характерны для гиалоплазмы. В организации трёхмерной сети, структурирующей цитоплазму, контролирующей в ней потоки вещества и информации, определяющей её вязкость, ведущая роль принадлежит цитоскелету, в особенности, актиновым микрофиламентам с сопутствующими белками. Они удерживают на своих местах все внутриклеточные органоиды и макромолекулярные комплексы; их сборка и разборка определяют консистенцию гиалоплазмы (при взаимодействии фибриллярного актина с белками типа фимбрина происходит стабилизация геля, а при связывании с белками типа *гельзолина*, активность которых зависит от концентрации кальция, происходит

фрагментация фибрилл и переход всей системы в состояние золя); перестройка молекул меняет направления материальных и информационных потоков внутри клетки. Гиалоплазма клетки – это ни в коей мере не мешочек с гелем, в котором все вещества распространяются диффузно (хотя подобные моменты в ней и присутствуют). Гиалоплазма – в высшей степени структурированная система, управляющая путями внутриклеточного транспорта. Все белки, синтезирующиеся в цитоплазме, имеют в своём составе специфические сигнальные последовательности, которые узнаются клеткой и в соответствии с которыми белок направляется к месту своего назначения – ядру, ЭПР, аппарату Гольджи и прочим органоидам, клеточной поверхности. Часто бывает достаточно связывания одной информационной молекулы с рецептором на поверхности мембраны клетки, чтобы рецептор запустил каскад направленной биохимической передачи сигнала, меняющей поведение клетки, её метаболическую активность или направление развития.

Тема 7. Поверхностный аппарат клетки

7.1. Общая характеристика поверхностного аппарата

Поверхностный аппарат необходим клетке для изоляции внутриклеточных процессов от внешней среды. Однако изоляция в данном случае не может быть абсолютной. Клетка должна обмениваться со средой веществами, энергией, информацией, поэтому поверхностный аппарат должен осуществлять ***регулируемый*** перенос этих компонентов в обоих направлениях, а также воспринимать сигналы внешней среды с помощью *рецепторов*. В процессах движения и размножения клеток также напрямую используются элементы клеточной поверхности, их конечный результат во многом зависит от свойств поверхностного аппарата. Кроме того, благодаря взаимодействию своих поверхностей, клетки могут образовывать между собой контакты и объединяться в ткани.

Таким образом, функции поверхностного аппарата клетки сводятся к следующему ряду:

1) барьерная функция,
2) транспортная функция,
3) рецепторная функция,
4) контактная функция.

В составе поверхностного аппарата выделяют три составные части: *плазматическую мембрану*, *надмембранный комплекс* (*гликокаликс*) и *субмембранный комплекс* (*кортикальный цитоскелет*). Рассмотрим организацию этих компонентов клеточной поверхности в связи с выполняемыми ими функциями.

7.2. Плазматическая мембрана, или плазмалемма

Всякая клетка окружена плазматической мембраной, или *плазмалеммой*. Основу мембраны составляет *билипидный слой*, формирующийся за счет гидрофобных взаимодействий между молекулами липидов. Как уже рассматривалось в первой главе, молекула липида состоит из гидрофильной головки и гидрофобных углеводородных хвостиков – остатков жирных кислот. В водной среде молекулы агрегируют таким образом, чтобы с водой соприкасались лишь головки, а хвостики были спрятаны от водной фазы. Устойчивым вариантом такой агрегации является мембрана в виде двойного слоя липидов, где оба слоя обращены друг к другу хвостами составляющих их молекул (рис. 82 и 83). При этом молекулы липидов могут «перепрыгивать» из одного слоя в другой (*флип-флоп*), а также перемещаться целыми пластами в латеральном направлении. Срединный гидрофобный слой мембраны, образованный жирными кислотами, создает надежный непроницаемый барьер для большинства необходимых клетке веществ – в первую очередь, для органических соединений (сахаров, аминокислот и др.) и ионов минеральных солей (Na^+, K^+, Ca^{2+} и др.). Через липидную фазу беспрепятственно могут диффундировать лишь мелкие

и незаряженные молекулы типа газов (O_2, CO_2 и др.), а также различные жирорастворимые вещества, например, стероидные гормоны.

Для осуществления трансмембранного транспорта крупных молекул и заряженных частиц, а также для выполнения других важных биологических функций, в билипидный слой мембраны встроены белки. По расположению белков в мембране их можно разделить на *поверхностные* белки (лежат на мембране сверху или снизу), *полуинтегральные* белки (погружены в билипидный слой на глубину одного ряда липидов) и *интегральные* белки (пронизывают мембрану насквозь) (рис. 82). Строение мембранных белков таково, что с водной фазой они соприкасаются гидрофильными аминокислотами, а с липидной фазой – гидрофобными, что стабилизирует их положение в мембране. В свою очередь, липидная фаза мембраны стабилизируется белками, имеющими связь с субмембранным цитоскелетом, так что белковый каркас не дает липидам мембраны растечься. Такая организация плазматической мембраны определяется как *жидкостно-мозаичная модель*; она подразумевает, что в жидком слое постоянно мигрирующих липидов в мозаичном порядке встроены белки, заякоренные на белки цитоскелета и потому гораздо менее подвижные. Таким образом, положение белков в мембране контролируется клеткой. Благодаря связыванию липидов с белками мембрана ведёт себя как жидкостное образование, но при этом остаётся стабильной. Несмотря на то, что на место одних липидов постоянно встают другие, общая мозаика липидов и белков не изменяется.

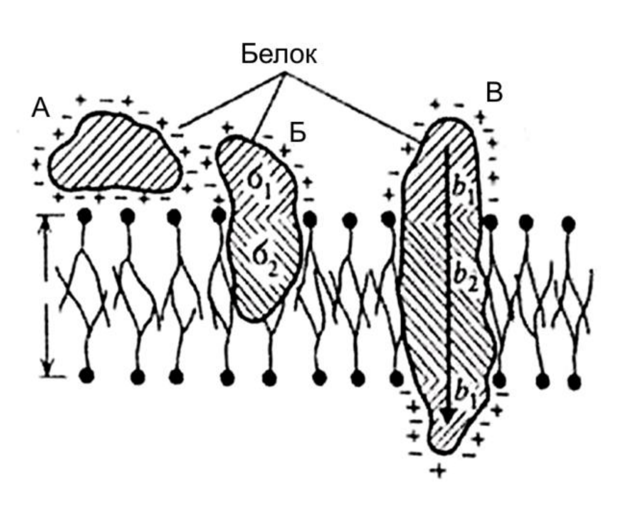


Рис. 82. Белки мембраны (по: Ченцов, 2004). А – поверхностный белок, связан ионными взаимодействиями; Б – полуинтегральный, В – интегральный белок, связан с билипидным слоем гидрофильно-гидрофобными взаимодействиями.

Липидный и белковый состав различается в мембранах разных органоидов, а также в разных участках плазматической мембраны, в том числе, с ее двух сторон. Это соотношение определяется функциями той или иной мембраны. Так, внешний слой плазматической мембраны более богат холестерином по сравнению с ее внутренним слоем и, особенно, с мембранами органоидов вакуолярной системы клетки. Холестерин придает плазматической мембране жесткость и ограничивает ее текучесть.

Пограничное положение плазматической мембраны подразумевает наличие у нее *рецепторной функции*, т.е. функции восприятия внешней информации и ее передачи на внутриклеточные структуры. На внешней стороне плазмалеммы располагаются рецепторы – клеточные «органы чувств», воспринимающие разные типы информационных сигналов – как физических (свет, тепло, давление), так и химических (различные сигнальные молекулы). Чаще всего рецепторы представляют собой молекулы белков, встроенных в мембрану и содержащих снаружи углеводную часть. Это могут быть *гликопротеины* (белок + ковалентно связанный с ним углевод) или *гликопротеиды* (белок + нековалентно связанный углевод). Молекулы рецепторов обладают высокоспецифичной пространственной конфигурацией, позволяющей им точно распознавать и связывать строго определенные сигнальные вещества – *лиганды*. В многоклеточном организме в роли сигнальных молекул чаще всего выступают гормоны или другие биологически активные вещества. После связывания гормона (или другого лиганда), рецептор на время изменяет свою конформацию, тем самым запуская цепь специфических химических реакций, передающих информацию от гормонального сигнала внутрь клетки. Благодаря слаженной работе рецепторов и сигнальных молекул в многоклеточном организме строго координируется работа отдельных клеток и направление их развития. Клетки получают разнообразную информацию от внешней среды, друг от друга

или от внеклеточного вещества (при непосредственном соприкосновении или через диффундирующие водорастворимые молекулы), и эта информация влияет на судьбу клеток, контролирует их деятельность. Одним из примеров нарушения такого контроля служит появление в организме раковых клеток. Перерождение нормальных клеток в опухолевые происходит в результате потери ими способности адекватно реагировать на регулирующие влияния организма. Такие клетки теряют признаки тканевой специализации и способны только питаться и делится с образованием бесформенного сгустка недифференцированных клеток до тех пор, пока во внутренних слоях этого сгустка клетки не начнут отмирать от недостатка кислорода и питательных веществ.

Если рецептор соединяется не с растворённым веществом, а с молекулами, фиксированными на поверхности субстрата (например, с другим рецептором, находящимся на поверхности соседней клетки), то в этом случае рецептор может способствовать слипанию клетки с субстратом.

Функция рецепции неразрывно связана с *функцией регулируемого транспорта веществ* через мембрану. Рассмотрим механизмы *трансмембранного транспорта* веществ (т.е. их переноса сквозь мембрану) в клетку и из клетки подробнее.

Ранее уже отмечалось, что в силу гидрофобных свойств билипидного слоя мембрана выполняет барьерную функцию, которая должна дополняться функцией транспортной, коль скоро клетка является открытой материальной системой. Действительно, плазматическая мембрана является *полупроницаемой*, – это означает, что различные типы молекул проходят сквозь неё с разной скоростью. Через мембрану быстро и легко диффундирует вода, хотя каналы и механизмы этой диффузии точно не установлены. Однако ионы солей мембрана задерживает и строго контролирует их диффузию. Это свойство определяет мембрану как *осмотический барьер*. Если концентрация солей во внешней среде выше, чем внутри клетки, то вода будет диффундировать через мембрану во внешнюю среду, разбавляя концентрированный раствор до тех пор, пока концентрация соли по обе стороны мембраны не уравняется. Поэтому клетки, помещенные в *гипертонический раствор* (раствор с повышенной концентрацией солей), сморщиваются. В *гипотоническом* растворе (с пониженной концентрацией солей) клетки, наоборот, набухают, поскольку теперь вода диффундирует через мембрану в обратном направлении. В случае животной клетки, не имеющей прочной целлюлозной клеточной стенки, длительное пребывание в гипотоническом растворе приводит к разрыву плазматической мембраны.

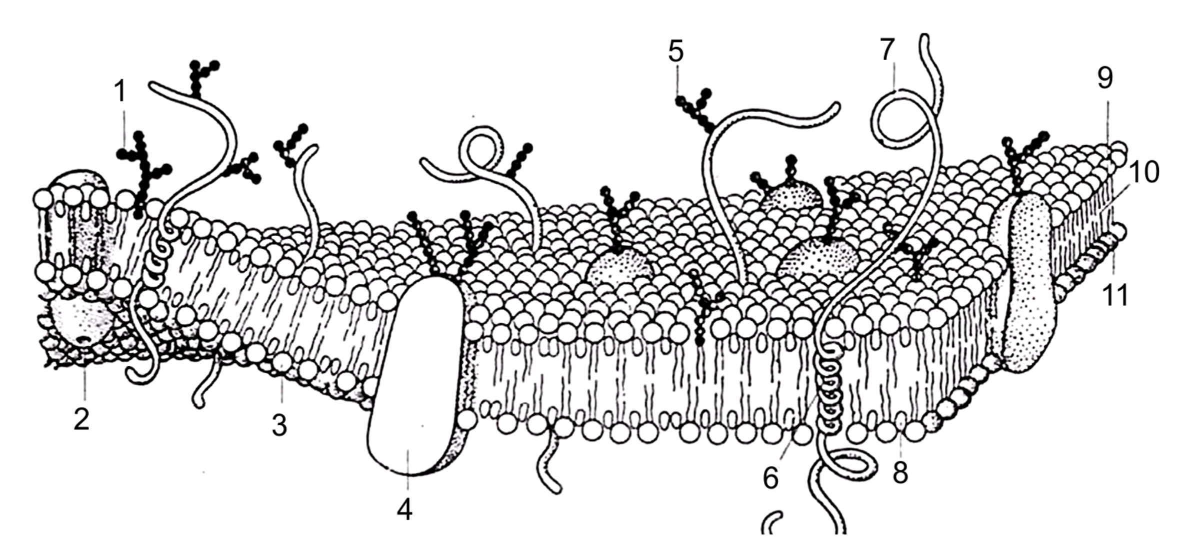


Рис. 83. Трёхмерная схема жидкостно-мозаичной модели мембраны (по: Албертс и др., 1994). 1 – гликолипид; 2 – ионный канал; 3 – фосфолипид; 4 – интегральный белок; 5 – молекула олигосахарида, присоединенная к белковой цепи; 6 – гидрофобный участок альфа-спирали; 7 – альфа-спиральная белковая молекула; 8 – холестерин; 9 – наружная поверхность; 10 – липидная сердцевина; 11 – внутренняя поверхность.

По принципу выравнивания концентраций (*по градиенту концентрации*) через мембрану могут проходить не только молекулы воды, но и заряженные ионы, однако для них в билипидный слой встроены специальные интегральные белки, выполняющие роль *ионных каналов*. Для каждого вида ионов существуют свои каналы. В нужный момент канал открывается (за счет временного изменения конформации белка), и ионы направляются из области с большей концентрацией в область с меньшей концентрацией. В других случаях имеются мембранные *белки-переносчики*, которые избирательно связываются с тем или иным ионом и переносят его через мембрану (*облегчённая диффузия*). Поскольку неравновесное состояние материи самопроизвольно стремиться к равновесному (см. Второй закон термодинамики), транспорт по градиенту концентрации не требует дополнительных затрат энергии и называется *пассивным транспортом*. *Активный транспорт*, напротив, требует энергетических затрат, так как осуществляется *против градиента концентрации* веществ, – вещество переносится из зоны с его низкой концентрацией в зону с высокой концентрацией. Такой транспорт осуществляют белковые каналы особого типа – *ионные насосы*. Они состоят из трансмембранных (интегральных) белков, обратимо связывающихся с переносимой молекулой и меняющих свою конформацию так, что связанный ион перетаскивается на другую сторону мембраны и там отсоединяется. Вся эта работа идёт за счёт энергии АТФ, поэтому ионный насос сопряжён с ферментом *АТФ-азой*, расщепляющим молекулу АТФ с освобождением заключённой в ней энергии. Часто канал связан с рецептором и открывается или закрывается в ответ на воспринятое им воздействие.

Рассмотрим работу одного из важнейших ионных насосов – *(K^+/Na^+)-насоса* (рис. 84). Этот канал за один цикл своей работы выкачивает из клетки 3 иона Na^+ и закачивает в клетку 2 иона K^+. В результате общее число положительно заряженных ионов в цитоплазме становится меньше, чем в околоклеточном пространстве, и на мембране возникает *электрический потенциал* с отрицательным зарядом на внутренней стороне мембраны и положительным на внешней. Это универсальное для всех живых клеток свойство: пока клетка жива, её плазмалемма электрополяризована. Особое значение разность зарядов приобретает в нервных клетках при создании нервного импульса: в момент возбуждения нейрона происходит раскрытие каналов пассивного транспорта для натрия, и скопившийся на внешней стороне мембраны натрий проникает в клетку по градиенту концентрации. В результате осуществляется перезарядка мембраны нейрона и распространение электрической волны по аксону, что и составляет сущность передачи нервного импульса. Градиент концентрации натрия, создаваемый за счет работы (K^+/Na^+)-насоса, используется клеткой и для других нужд, в частности, для питания. Вместе с ионами натрия через каналы пассивного транспорта в клетку заходит глюкоза, которая еще за пределами клетки связывается с натрием, чтобы использовать его как пропуск для прохождения через натриевый канал, а затем, попадая в цитоплазму, отсоединяется. Таким образом, активное поддержание градиента концентрации натрия выступает как необходимое условие осуществления пассивного транспорта питательных веществ и является неотъемлемой частью клеточного *гомеостаза* – некоего постоянства внутреннего состава и свойств клетки. Сходным образом поддерживается градиент концентрации ряда других веществ между клеткой и околоклеточной средой. На поддержания своего гомеостаза клетка тратит 80% всей АТФ – столько стоит труд, затрачиваемый на противодействие второму закону термодинамики, на противостояние разрушению, рассеиванию и смерти.

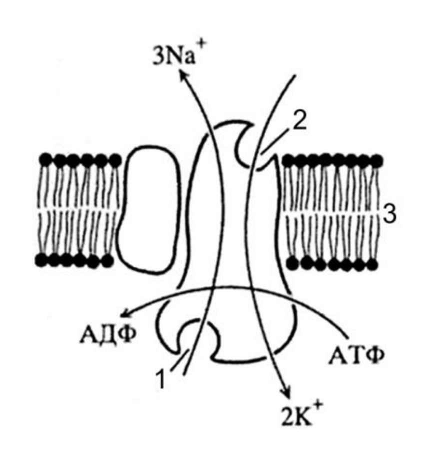


Рис. 84. (K^+/Na^+)-насос (по: Ченцов, 2004).
1 - участок связывания Na^+;
2 - участок связывания K^+;
3 - мембрана.

Через мембранные каналы (т.е. путем трансмембранного транспорта) могут проходить лишь низкомолекулярные вещества, в основном ионы и

органические мономеры. Однако неотъемлемой частью клеточного транспорта является перенос крупных органических макромолекул, которые слишком велики для мембранных каналов. Макромолекулы транспортируются посредством *везикулярного транспорта*, т.е. будучи заключенными в мембранную оболочку. Везикулярный транспорт через мембрану идёт в двух направлениях: *экзоцитоз* – вынос веществ из клетки, и *эндоцитоз* – поглощение веществ клеткой. Эндоцитоз, в свою очередь, может протекать как *фагоцитоз* – поглощение крупных частиц, и *пиноцитоз* – поглощение водных растворов с помощью ультрамикроскопических везикул.

При фагоцитозе клетка окружает поглощаемую частицу с помощью псевдоподий, смыкает их, заключает частицу в мембранный пузырек и погружает в цитоплазму. Клетка связывает поглощаемые частицы рецепторами клеточной поверхности, что способствует адгезии (прилипанию) частицы к мембране (рис. 85, а). Фагоцитоз – одна из ключевых реакций жизнедеятельности клеток. Он составляет основу пищевого поведения амебоидных одноклеточных, а также основу функционирования фагоцитарных клеток многоклеточного организма, таких как макрофаги, нейтрофилы и др. Когда фагоцитарные клетки не могут поглотить слишком большую чужеродную частицу, они окружают ее большим числом и покрывают сплошной оболочкой (инкапсулируют), ограждая таким образом от внутренней среды организма. Если же эти клетки высадить на искусственный субстрат (пластик, стекло), они распластываются по субстрату, стараясь закрыть собой всю свободную поверхность. Эта реакция принципиально сходна с фагоцитозом в том смысле, что также представляет собой обтекание, изолирование чужеродного объекта.

Механизм пиноцитоза связан с так называемым *кэппингом*: рецепторы клеточной поверхности связываются с молекулами субстрата в окружающей жидкости, тем самым оказываются занятыми, связаными и теряют свою функциональность. Такие рецепторы, будучи связанными с нитями кортикального цитоскелета, со всей клеточной поверхности перемещаются в один или несколько компактных кластеров – «колпачков», или «кэпов»; затем участки мембраны, содержащие связанные рецепторы, поглощаются клеткой в виде мелких пиноцитозных вакуолей для переработки (рис. 85, б и 86).

В случае экзоцитоза пузырьки со стороны цитоплазмы покрываются белком *клатрином*, который обеспечивает сцепление таких *окаймлённых пузырьков* с элементами цитоскелета для последующего транспорта в пределах клетки и препятствует их слипанию друг с другом. С помощью экзоцитоза осуществляется *секреция* – выделение клетками желез синтезированных веществ во внутренние полости, кишечник, на кожные покровы.

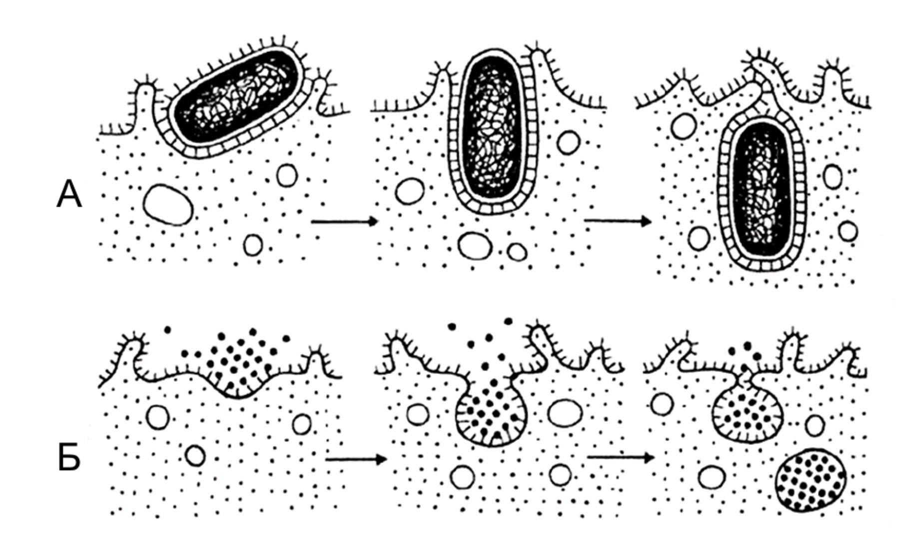


Рис. 85. Эндоцитоз (по: Ченцов, 2004). А – схема фагоцитоза; Б – схема пиноцитоза.

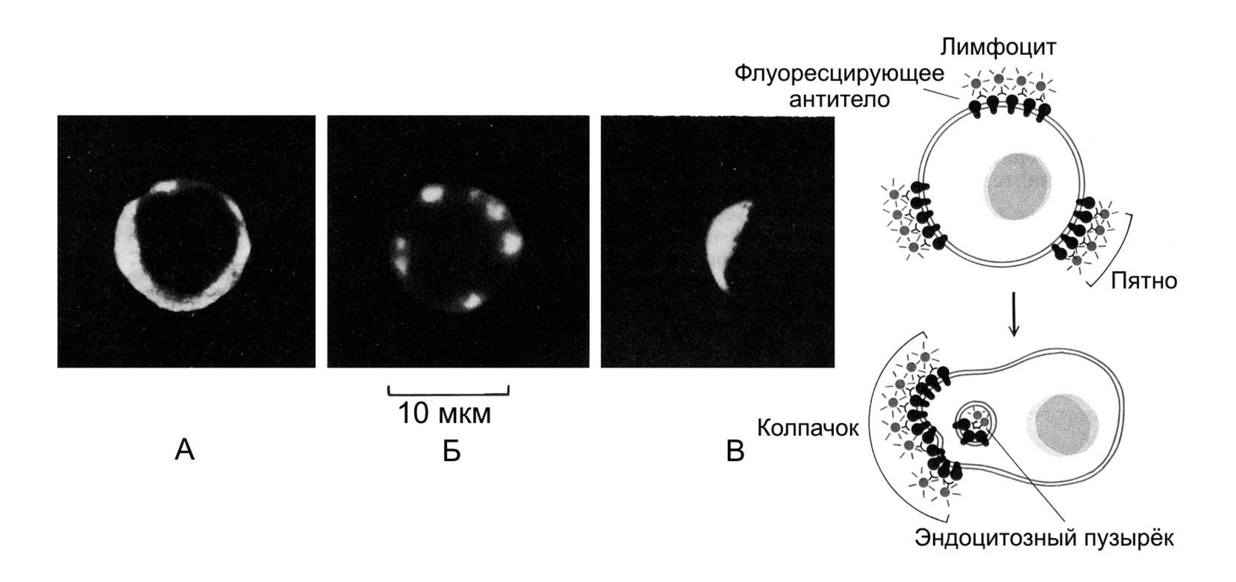


Рис. 86. Микрофотография и схема кэппинга рецепторов клеточной поверхности лимфоцита, связанных молекулами субстрата, ассоциированного с флуоресцентным красителем (по: Албертс и др., 1994). А – связанные рецепторы распределены равномерно по мембране; Б – рецепторы собираются в отдельные кластеры; В – кластеры объединяются в единый «колпачок».

7.3. Надмембранный комплекс

Надмембранный комплекс включает в себя все структуры, расположенные над плазмалеммой, т.е. с внешней стороны клетки. Сюда можно отнести наружные фрагменты поверхностных и интегральных белков мембраны, углеводные цепочки, клеточные рецепторы. Основная структура надмембранного комплекса – *гликокаликс* – представляет собой совокупность разветвленных гликопротеидных цепочек на поверхности мембраны. Гликокаликс имеет вид рыхлого волокнистого слоя толщиной 3-4 нм (в некоторых случаях до 100 нм), покрывающего всю поверхность клетки (рис. 87—88). Находясь в непосредственном контакте с внешней средой, он играет важную роль в *рецепторной функции* поверхностного аппарата клеток. Помимо этого, углеводный компонент гликокаликса может выполнять ряд специальных функций, в частности, *создание околоклеточной среды*. Так, в поверхностном аппарате эритроцитов млекопитающих углеводный компонент интегрального гликопротеина *гликофорина* необходим для создания отрицательного заряда на поверхности эритроцитов, что препятствует их агглютинации (слипанию). Другой пример – мощно развитый гликокаликс солевых клеток и клеток осморегулирующих и выделительных эпителиев, который, прежде всего, выполняет роль *ионных «ловушек»* (благодаря «запутыванию» ионов в ветвях полисахаридных цепочек), создавая локальное повышение концентрации ионов в определенных участках клеточной поверхности. Принципиально важное значение имеет сильно развитый гликокаликс в эпителиальных клетках слизистой оболочки кишечника, осуществляющих так называемое *пристеночное пищеварение*. В полости кишечника пищевые полимеры перевариваются с образованием олигомеров и димеров, которые окончательно расщепляются до мономеров уже в непосредственной близости от клеточной мембраны клеток кишечного эпителия – с участием ферментов, абсорбированных в гликокаликсе микроворсинок этих клеток.

Кроме функций, обусловленных специализацией клеток, углеводные компоненты гликокаликса играют важную роль в индивидуализации разных типов клеток или даже отдельных клеток. Благодаря чрезвычайному разнообразию химических связей в молекулах углеводов, последние являются специфическими *маркерами*, придающими поверхности каждой клетки свое «лицо». На этом основано, в частности, тканеспецифическое узнавание клетками друг друга после их разделения у эмбрионов или даже у взрослых примитивных животных, таких как губки. Тот же принцип лежит в основе распознавания антигенов в реакциях специфического иммунитета у позвоночных животных.

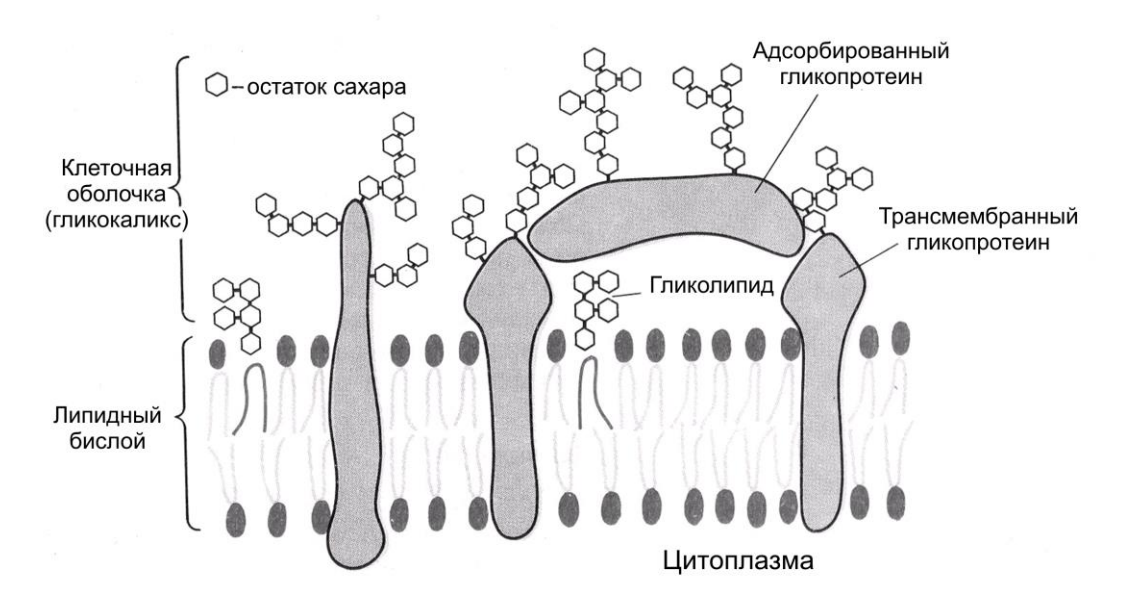


Рис. 87. Схематическое изображение клеточной оболочки (гликокаликса), состоящей из боковых олигосахаридных цепей мембранных гликопротеидов и гликопротеинов, а также адсорбированных гликопротеидов и гликопротеинов (по: Албертс и др., 1994).

В состав гликокаликса, помимо углеводов, могут входить и белки. Примером таких белков служат специфические рецепторы В-лимфоцитов – иммуноглобулины. Основная часть молекулы иммуноглобулина закреплена в мембране с помощью одного гидрофобного участка, а рабочая, вариабельная часть, несущая антигенные детерминанты, находится в надмембранной области.



Рис. 88. Электронная микрофотография поверхности лимфоцита (по: Албертс и др., 1994).

Еще одной разновидностью надмембранного комплекса являются полисахаридные *клеточные стенки* бактерий, грибов и растений – целлюлозные, муреиновые, хитиновые и др. У некоторых животных развитие надмембранных структур в клетках кожного эпителия приводит к образованию *кутикул*, например, хитиновых оболочек у членистоногих и туницинловых – у асцидий.

7.4. Субмембранный комплекс

Субмембранный комплекс образован элементами периферического примембранного цитоскелета (кортикального цитоскелета) и белками, обеспечивающими его связь с мембраной. Субмембранный комплекс, таким образом, занимает промежуточное положение и играет связующую роль между плазмалеммой, основным цитоскелетом и гиалоплазмой.

Функционирование кортикального цитоскелета во многом определяет подвижность клеточной поверхности и движение целых клеток. Выше уже приводился пример того, как обратимая перестройка актиновых микрофиламентов, непосредственно контактирующих с мембраной, приводила к формированию псевдоподий у амебы. Взаимодействие кортикальных актиновых филаментов с миозином и их скольжение друг относительно друга составляют механизм движения микроворсинок в клетках кишечного эпителия, образования перетяжки при клеточном делении, сужения апикальных (верхних) концов клеток эктодермального пласта при формировании нервной трубки в эмбриогенезе и других процессов. Важную функцию выполняет периферический цитоскелет в яйцеклетках: в его сети, в строго определенных местах зафиксированы особые регуляторные молекулы – *морфогенетические факторы*, которые в последствии, при делении зиготы, попадут в разные клетки зародыша и предопределят различные пути развития этих клеток.

7.5. Клеточные контакты

В многоклеточном организме, в составе органов и тканей, клетки контактируют друг с другом. Простейшим вариантом межклеточного контакта является обычная *адгезия*, или прилипание (рис. 89). За адгезию между клетками отвечают специальные *молекулы межклеточной адгезии* – так называемые *САМ-белки* (*cell adhesion molecules*), являющиеся элементами надмембранного комплекса. Существует несколько классов САМ-белков – *кадгерины*, *селектины*, *интегрины*; последние также осуществляют связь клеток с внеклеточным субстратом.

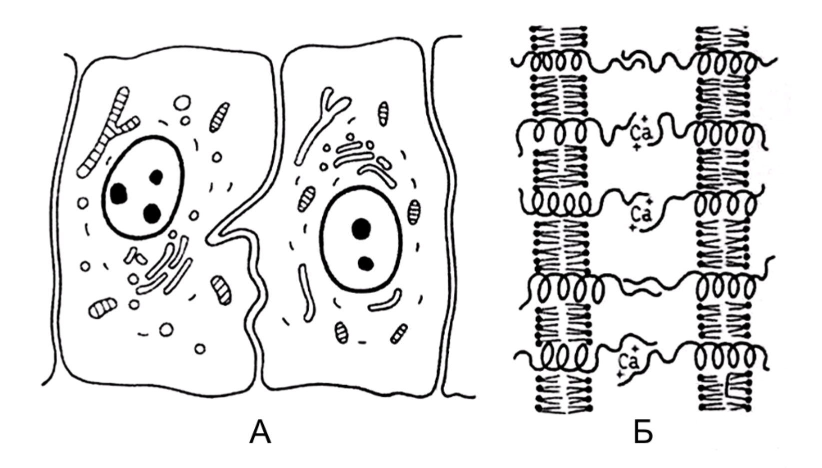


Рис. 89. Схема простого межклеточного соединения (по: Ченцов, 2004). А – простое соединение без участия специальных структур; Б – трансмембранные гликопротеиды определяют связывание двух соседних клеток.

Кроме простых адгезивных взаимодействий существует целый ряд специальных структур, обеспечивающих прочные межклеточные соединения – *клеточные контакты.* Рассмотрим несколько их разновидностей.

Запирающие, или *плотные, контакты* (рис. 90) характерны для однослойных эпителиев. В этом случае происходит плотное слияние мембран соседних клеток с помощью специальных интегральных белков. Зона слияния формируется не по всей площади контакта, а в некоторых точках мембраны. В клетках кишечного эпителия, например, плотный запирающий контакт опоясывает клетку в её верхней (апикальной) части, надёжно ограждая нижнюю (базальную) часть клеток от действия пищеварительных ферментов.

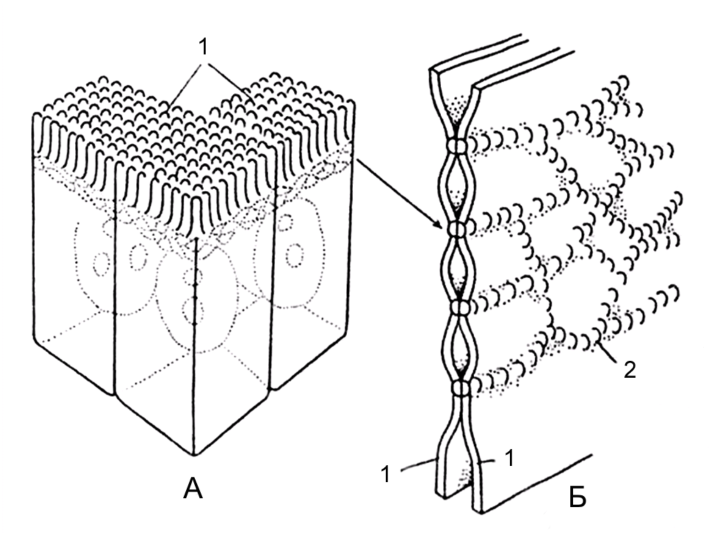


Рис. 90. Схема запирающего (плотного) соединения (по: Ченцов, 2004). А – расположение плотного соединения на клетках кишечного эпителия; Б – трёхмерная схема участка плотного соединения. 1 – плазматические мембраны соседних клеток; 2 – глобулы белка окклюдина, формирующего контакт.

Заякоривающие адгезивные, или *сцепляющие, контакты* (рис. 91) соединяют клетки не только с помощью компонентов мембраны, но также с участием цитоскелета. Существует несколько разновидностей таких соединений. Так, *фокальные контакты* связаны с микрофиламентами, а *десмосомы* – с промежуточными филаментами. Для этого рода соединений характерно наличие двух типов белков – это *трансмембранные* (интегральные) *линкерные* (связующие) *белки*, которые и участвуют в соединении клеток (или клетки и внеклеточного матрикса), и *внутриклеточные белки сцепления*, обеспечивающие взаимодействие мембранных элементов контакта со структурами цитоскелета. Сцепляющие соединения могут быть как точечными, так и опоясывающими, т.е. образовывать некий поясок, или *адгезивную ленту* по периметру клетки. Синхронное сокращение цитоскелета в клетках, образующих единый пласт за счет фокальных контактов, может вызвать изменение геометрии всего пласта – его изгибание, сворачивание и т.д. Рассмотрим некоторые примеры заякоривающих контактов.

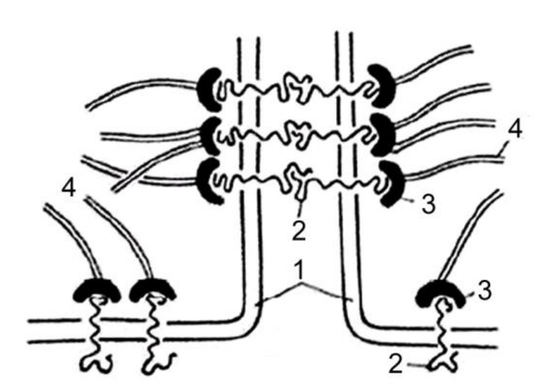


Рис. 91. Схема строения заякоривающих адгезивных соединений (по: Ченцов, 2004). 1 – плазматические мембраны; 2 – трансмембранные линкерные (связывающие) гликопротеиды; 3 – внутриклеточные белки сцепления; 4 – элементы цитоскелета.

Фокальные контакты, или *бляшки сцепления* (рис. 92) формируют на плазмалемме небольшие участки, содержащие трансмембранные линкерные белки *интегрины*, которые связываются с компонентами внеклеточного матрикса, в частности, с белком *фибронектином*. При помощи этих контактов амебоидная клетка, например *фибробласт* (клетка соединительной ткани), прикрепляется к субстрату и перемещается по нему. В

качестве внутриклеточных белков сцепления с цитоскелетом здесь выступают *талин*, *винкулин* и *альфа-актинин*.

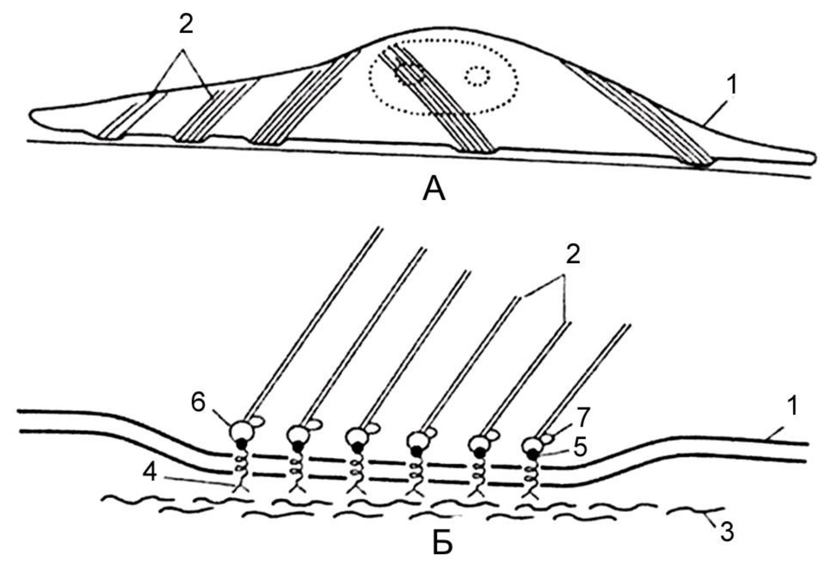


Рис. 92. Фокальный контакт (по: Ченцов, 2004). А – расположение в фибробласте; Б – молекулярная схема. 1 – плазматическая мембрана; 2 – микрофиламенты; 3 – межклеточный матрикс на основе белка фибронектина; 4 – рецептор фибронектина; 5 – талин; 6 – винкулин; 7 – альфа-актинин.

Десмосомы и полудесмосомы (рис. 93) также представляют собой структуры в виде бляшек или кнопок, соединяющие клетки друг с другом (десмосомы) или с внеклеточными структурами (полудесмосомы). В межклеточном пространстве здесь виден плотный слой интегральных белков – *кадгеринов,* сцепляющих клетки друг с другом. Со стороны цитоплазмы кадгерины связаны с промежуточными филаментами (посредством белка *десмоплакина*, образующего плотный слой в субмембранной области). Десмосомы чаще всего встречаются в эпителиях, а также в клетках сердечной мышцы, в эндотелии сосудов и др. Функциональная роль десмосом и полудесмосом сугубо механическая – они прочно сцепляют клетки друг с другом и с подлежащим внеклеточным матриксом, что позволяет клеточным пластам выдерживать большие механические нагрузки.

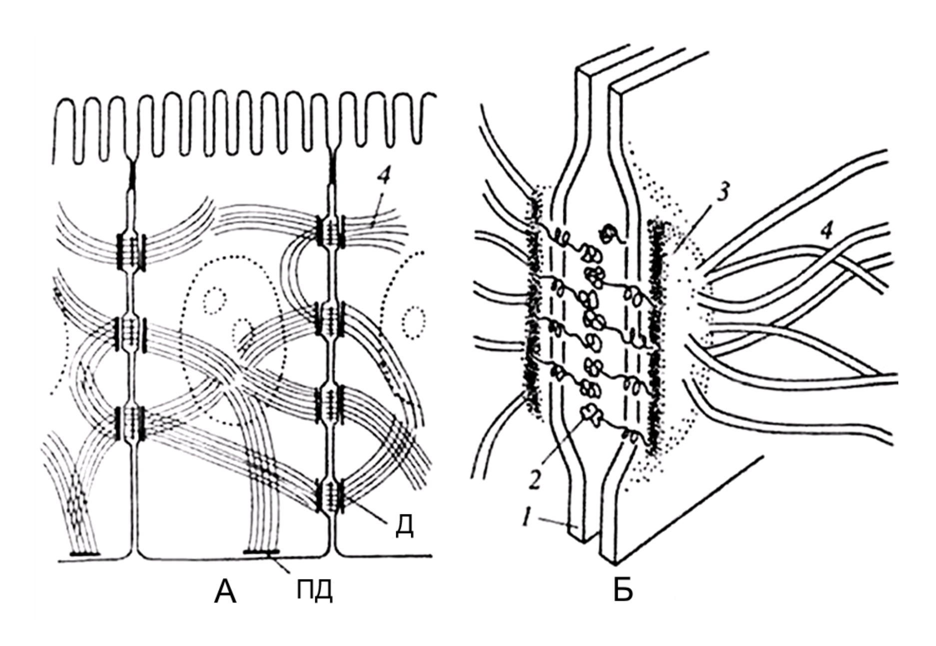


Рис. 93. Десмосома (по: Ченцов, 2004). А – расположение в клетке; Б – молекулярная схема. 1 – плазматическая мембрана; 2 – десмоглеиновый слой; 3 – слой десмоплакина; 4 – промежуточные филаменты. Д – десмосома; ПД – полудесмосома.

Помимо функции механического соединения, межклеточные контакты могут выполнять и коммуникационные функции, т.е. участвовать в передаче различных веществ и сигналов из клетки в клетку. Примером таких соединений являются *щелевые контакты* (рис. 94). В этом случае мембраны контактирующих клеток сближаются на расстояние 2-3 нм, образуя узкую щель, а сам контакт осуществляется за счет белковых комплексов – *коннексонов*, состоящих из белка *коннектина*. Коннексон представляет собой цилиндрическое образование с каналом внутри. Расположение коннексонов на соседствующих мембранах таково, что один канал непосредственно переходит в другой, при этом образуется сплошной проход между клетками. Щелевые контакты используются в тех случаях, когда необходима быстрая передача нервного импульса от клетки к клетке без участия нейромедиаторов – например, в мышечных клетках миокарда, где, тем самым, создаются условия для синхронного сокращения большого количества клеток. Тот же принцип обеспечивает совместное сокращение гладкомышечных клеток в стенке матки.

Еще один вариант коммуникационного контакта – это *синаптический контакт*, или *синапс* (рис. 95), характерный для нервной ткани. Синапсы соединяют нейроны между собой (или с каким-либо другим иннервируемым элементом, например, мышцей) для передачи нервного импульса высокой эффективности. Отросток нейрона, передающего нервный импульс, образует на конце грушевидное расширение – *пресинапс*, который отделяется от *постсинапса* (участка мембраны принимающего нейрона) *синаптической щелью* шириной около 20-30 нм. В поверхностном слое цитоплазмы пресинапса выявляется большое количество мелких вакуолей – *синаптических пузырьков*, заполненных *медиаторами* – веществами, участвующими в передаче нервного импульса. В момент возбуждения пресинаптической мембраны от нервного импульса медиаторы выбрасываются в синаптическую щель путем экзоцитоза и связываются с рецепторами постсинаптической мембраны. В ответ на этот сигнал рецептор меняет свою конформацию, что, в свою очередь, является сигналом для открытия натриевых каналов пассивного транспорта, встроенных в мембрану постсинапса. Ионы натрия с поверхности постсинаптической мембраны поступают в цитоплазму принимающего нейрона, что вызывает локальную перезарядку его мембраны (измененный заряд мембраны будет существовать до тех пор, пока натрий снова не будет удален из клетки за счет работы каналов активного транспорта). Затем волна перезарядки передвигается по всему нейрону, пока не достигнет конца его передающего отростка (аксона), который, в свою очередь, является пресинапсом по отношению к следующему нейрону в нервной цепи. Так осуществляется передача нервного импульса по цепи нейронов.

Рис. 94. Схема щелевого соединения (по: Ченцов, 2004). 1 – коннексон; 2 – плазматическая мембрана. Стрелка показывает канал, образованный двумя коннексонами.

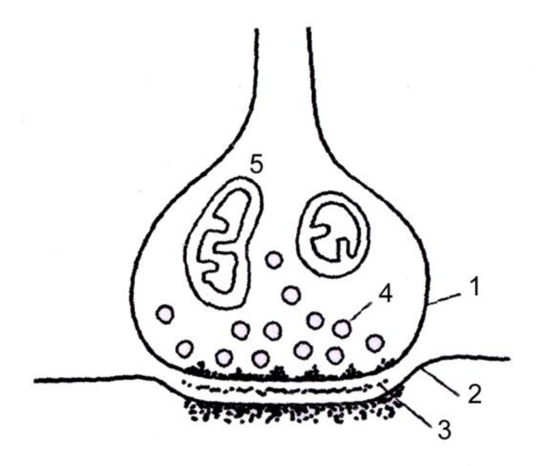


Рис. 95. Синапс (по: Ченцов, 2004). 1 – пресинапс; 2 – постсинапс; 3 – медиатор в синаптической щели; 4 – пузырьки с медиатором; 5 – митохондрия.

Тема 8. Репродукция клеток

8.1. Общая характеристика клеточного размножения. Понятие клеточного цикла

Неотъемлемым свойством живого является способность к самовоспроизведению, или *репродукции*. Обновляются белки, размножаются клетки, воспроизводятся целые организмы. Соматические клетки (все клетки тела кроме половых), а также незрелые половые клетки делятся при помощи *митоза* – такого механизма, при котором из одной диплоидной клетки ($2n$) образуются две дочерние диплоидные клетки ($2n$), полностью идентичные друг другу и материнской клетке. Митоз включает в себя процессы конденсации хромосом, их равноценного распределения между дочерними клетками и разделения самого клеточного тела пополам путем образования перетяжки.

Митотическим путем размножаются клетки в эмбриональном и постэмбриональном развитии многоклеточных организмов. На основе митоза осуществляется также *бесполое*, или *вегетативное*, *размножение* самих организмов – растений и низших животных, таких как губки, кишечнополостные, черви и т.д. При этом используются недифференцированные *стволовые* клетки, сохраняющие эмбриональные потенции, либо зрелые соматические клетки *дедифференцируются* (теряют признаки специализации) и начинают размножаться до образования достаточно большой клеточной массы. Затем клетки этой массы вновь дифференцируются (специализируются) в различных направлениях, и возникает новый организм. Поскольку такое размножение происходит при участии одного родителя, то дочерний организм полностью наследует все его признаки, т.е. является его генетической копией. В этом смысле клонирование организмов также можно рассматривать как вариант бесполого размножения.

Однако основным способом воспроизведения эукариотических организмов является *половое размножение*, когда в образовании новой особи участвуют два родителя. В этом случае каждый организм образует специальные половые клетки – *гаметы*, которые несут гаплоидное число хромосом ($1n$). При встрече двух гаплоидных гамет (женской и мужской) диплоидный хромосомный набор восстанавливается в *зиготе* (одноклеточном зародыше), но теперь он содержит качественно новый генотип, получившийся в результате *рекомбинации* родительских признаков. Таким образом, половое размножение открывает огромное поле для генетических «экспериментов» и предоставляет обширный материал для естественного отбора. Механизмом формирования зрелых гаплоидных гамет из диплоидных клеток-предшественниц выступает особый тип клеточного деления – *мейоз*.

Клеточному делению, будь то митоз или мейоз, всегда предшествует репликация ДНК (молекулярные механизмы этого процесса описаны в разделе 2 «Генетический аппарат клетки»). Поэтому между двумя очередными делениями должен существовать подготовительный период – *интерфаза*. Время жизни клетки от одного деления до другого (а точнее, от момента ее образования путем деления материнской клетки до того момента, когда она сама разделится с образованием двух дочерних клеток) называют *клеточным*, или *митотическим, циклом* (рис. 96). Клеточный цикл продолжается обычно 12-24 часа и включает в себя две основные стадии – *интерфазу* и само *деление* (митоз или мейоз). Интерфаза, как правило, занимает большую часть времени клеточного цикла и состоит из нескольких периодов. Первый из них – *G_1-период*, или *постмитотический (пресинтетический) период* – самый продолжительный, на его протяжении только что образовавшаяся клетка растет, увеличивается в размерах, синтезирует белки и достраивает органоиды. Хромосомный набор такой клетки составляет $2n2c$, где n – гаплоидное количество хромосом, а c – соответствующая ему масса ДНК. Показатели n и c видоспецифичны. Например, у человека $n = 23$, а $c = 3 \cdot 10^{-12}$ г. Таким образом, в диплоидном наборе все хромосомы находятся в парах, у человека $2n = 46$ хромосом, т.е. по две гомологичных хромосомы в каждом из 23-х номеров. Иногда клетки выходят из цикла в так называемый *G_0-период* – состояние, соответствующее клеточному покою. Клетки, готовящиеся к делению, вступают в следующий период интерфазы – *S-период*, или *синтетический период*, в течение которого происходит синтез (удвоение) ДНК, или репликация. Параллельно происходит синтез белков гистонов и их миграция в ядро для связывания с вновь образованными молекулами ДНК. По окончании S-периода хромосомный набор клетки равен $2n4c$, поскольку теперь каждая хромосома состоит не из одной, а из двух идентичных молекул ДНК. Следующий этап – *G_2-период*, или *постсинтетический (премитотический) период* – является подготовительным перед последующим делением: начинают компактизоваться хромосомы, запасается АТФ и др. После завершения интерфазы клетка приступает к делению.

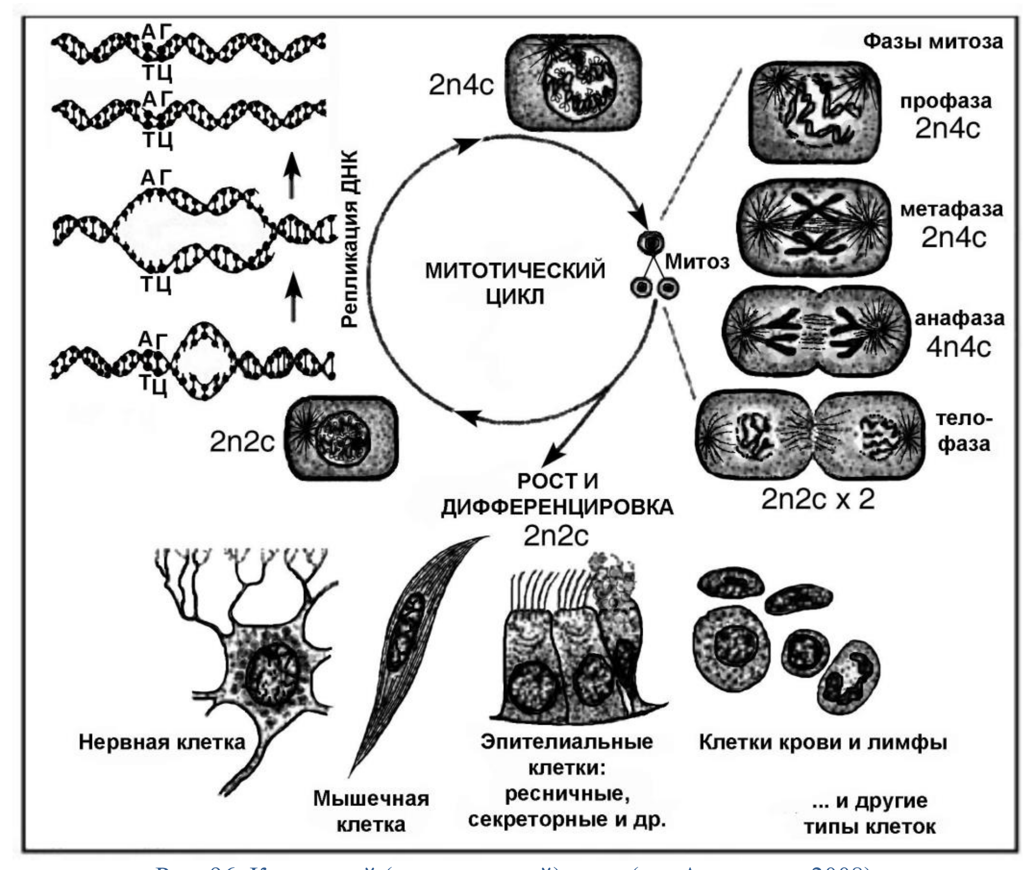


Рис. 96. Клеточный (митотический) цикл (по: Анисимов, 2008).

Число последовательных делений может быть неопределенно большим. Практически бесконечные потенции к размножению имеют эмбриональные стволовые клетки, клетки раковых опухолей и перевиваемых клеточных культур (in vitro). Однако в развивающемся организме под действием химических регуляторов (гормонов и др.) в определенное время определенная часть клеток из G_1-периода переходит к дифференцировке (как правило, необратимо). Потом они работают, стареют и умирают. Но в резерве всегда остаются стволовые клетки, которые вовлекаются в новый S-период и вновь проходят митоз.

8.2. Митоз

Собственно митоз занимает относительно короткое время, всего около 0,1 или даже меньше от времени клеточного цикла. Так, из 20-22 часов, приходящихся на весь цикл клеток кишечного эпителия мыши, митоз занимает всего 1 час.

Процесс митоза можно разделить на несколько стадий (фаз).

Профаза. В профазе митоза (рис. 97) наблюдается конденсация хромосом – третий уровень компактизации хроматина (хромонема) переходит в четвертый уровень. Каждая хромосома теперь существует в виде уплотненной нити, состоящей их двух одинаковых хроматид, соединенных в области центромеры (первичной перетяжки). В профазных хромосомах резко снижается транскрипционная активность ДНК, а к середине профазы она исчезает полностью. Как следствие компактизации хромосом и остановки транскрипции исчезает ядрышко. Наряду с этим происходит распад ядерной ламины, ядерная оболочка теряет связь с хроматином и фрагментируется. Фрагменты ядерной оболочки, эндоплазматический ретикулум и аппарат Гольджи распадаются на мелкие вакуольки. Клеточные центры (центриоли) активируются, окружающие их микротрубочки быстро растут, так что сами клеточные центры (звезды) расходятся к полюсам клетки, и формируется веретено деления.

Прометафаза. В прометафазе (рис. 98) хромосомы приобретают характерное для митоза строение в виде плотных конденсированных телец; это так называемые *метафазные хромосомы* – результат полной компактизации хроматина. Особые белковые структуры *кинетохоры*, ассоциированные с центромерными участками хромосом, присоединяются к микротрубочкам веретена деления; хромосомы, расположенные беспорядочно, начинают «расталкиваться» микротрубочками веретена таким образом, что, в конце концов, оказываются в срединной, экваториальной части клетки и формируют здесь центральную *метафазную пластинку*.

Метафаза. В метафазе (рис. 99) центральная хромосомная пластинка окончательно сформирована, и хромосомы лежат в экваториальной плоскости клетки. Хромосомы располагаются таким образом, что их центромерные участки обращены к центру веретена (к экватору клетки), а плечи – к периферии веретена (к полюсам клетки). Впрочем, у растений метафазные хромосомы часто лежат без особого порядка, хотя их центромерные участки выстраиваются в экваторе.

Анафаза. В анафазе (рис. 100) каждая хромосома разъединяется на две независимые хроматиды. Анафаза делится на подфазы – *анафазу А и анафазу Б.* Во время анафазы А происходит расхождение хроматид к полюсам – за счет укорачивания тех микротрубочек, которые связались с кинетохорами хромосом (*кинетохорных микротрубочек*). В анафазе Б, уже после остановки хромосом у полюсов, наблюдается дополнительное их расхождение за счет удаления полюсов друг от друга – в результате удлинения микротрубочек, не связанных с хромосомами (*полюсных микротрубочек*). Скольжение растущих полюсных микротрубочек, отходящих от противоположных полюсов, друг относительно друга (наподобие того, как это происходит при движении ресничек) может приводить к многократному увеличению длины веретена и вытягиванию делящейся клетки.

Телофаза. Телофаза начинается с остановки хромосом и заканчивается реконструкцией нового интерфазного ядра (рис. 101) с последующим *цитокинезом*, или

цитотомией – разделением клеточного тела (рис. 102). Хромосомы снова деконденсируются (четвертый уровень компактизации хроматина переходит обратно в третий), восстанавливая свою транскрипционную активность; в результате транскрипции рибосомных генов вновь появляется ядрышко; в местах контакта хромосом с мембранными пузырьками строится новая ядерная оболочка; разбирается веретено деления. После окончательного расхождения хромосом и восстановления ядерной оболочки происходит цитотомия. В ходе этого процесса задействуется актин-миозиновый цитоскелет – система микрофиламентов, особенно ее кортикальный слой. Последний, сокращаясь, формирует *борозду деления*, которая кольцом стягивает плазматическую мембрану клетки. Одновременно мембранные вакуоли сливаются с областью плазмалеммы около борозды деления, поставляя мембранный материал для построения новой поверхности. У растений этот механизм является основным, он происходит с активным участием аппарата Гольджи, при этом в экваторе делящейся клетки можно видеть большое скопление микропузырьков, так называемый *фрагмопласт*.

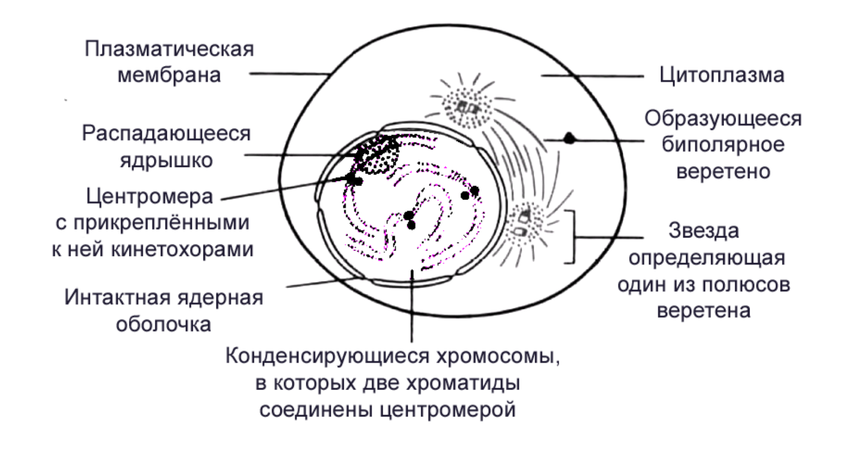


Рис. 97. Профаза митоза (по: Албертс и др., 1994).

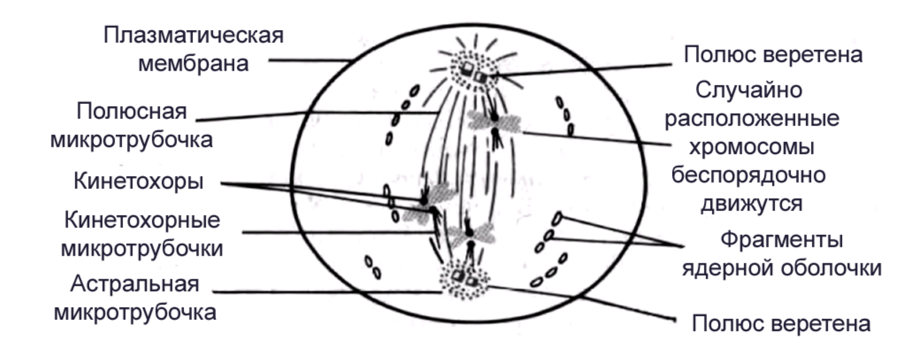


Рис. 98. Прометафаза митоза (по: Албертс и др., 1994).



Рис. 99. Метафаза митоза (по: Албертс и др., 1994).

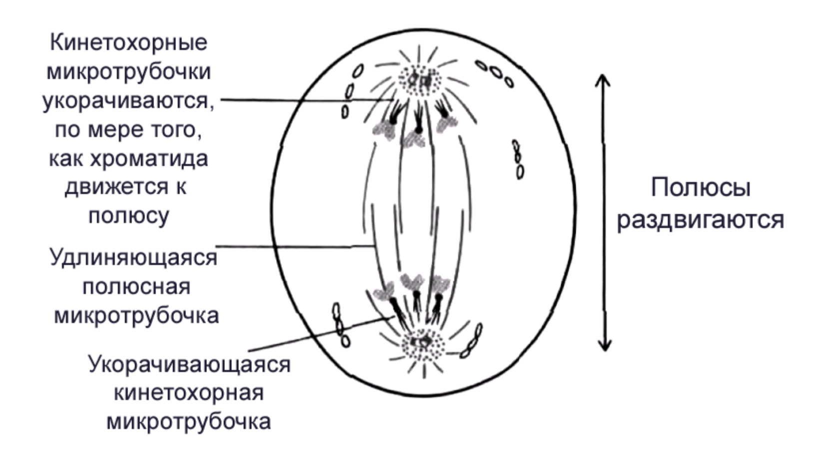


Рис. 100. Анафаза митоза (по: Албертс и др., 1994).

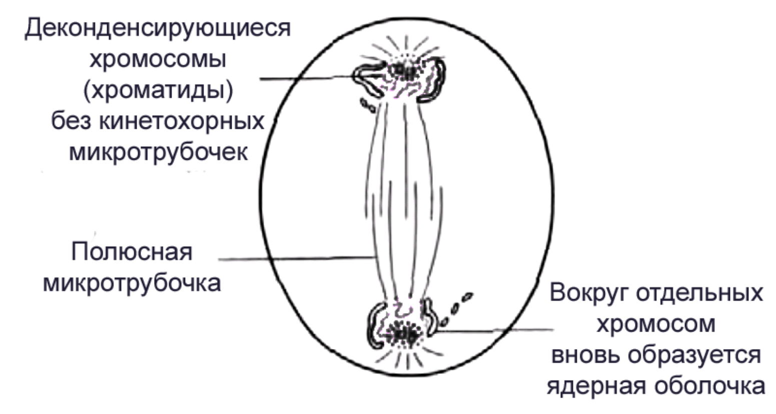


Рис. 101. Ранняя телофаза митоза (по: Албертс и др., 1994).

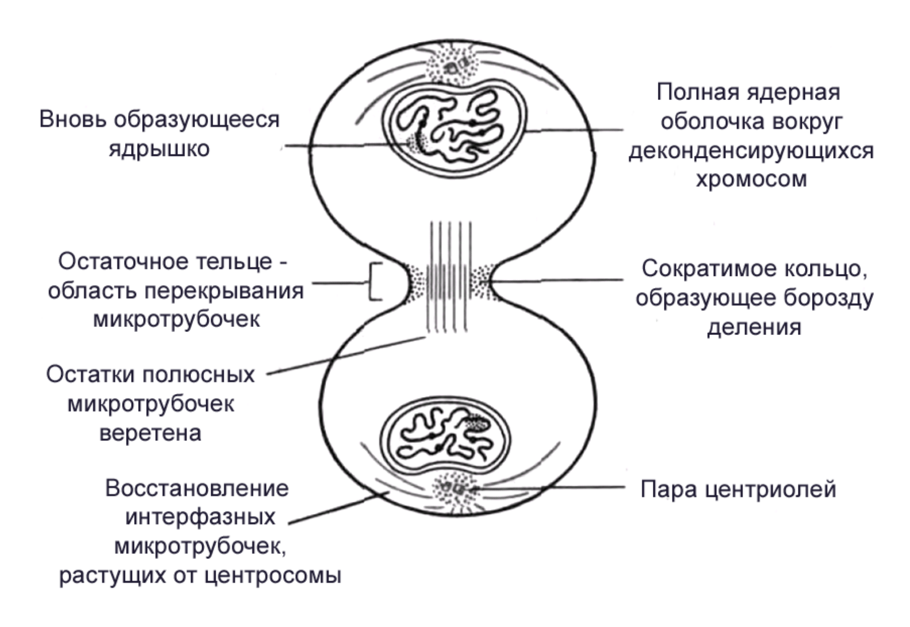


Рис. 102. Поздняя телофаза митоза – процесс цитотомии (по: Албертс и др., 1994).

Итак, в результате митоза получается две абсолютно идентичные диплоидные клетки с хромосомным набором $2n2c$ каждая. Идентичность достигается за счет того, что в дочерние клетки попадает по одной хроматиде из *каждой* удвоенной хромосомы. Напомним, что две хроматиды одной хромосомы представляют собой полные копии друг друга, поскольку они образуются в результате репликации ДНК в интерфазе по принципу

комплементарности. Таким образом, на основе механизмов комплементарного удвоения ДНК и последующего равноценного распределения дочерних молекул ДНК (в составе хромосом) в дочерние клетки обеспечивается точная передача генетической информации при размножении соматических клеток в пределах одного организма, а также при бесполом размножении.

8.3. Мейоз

Мейоз – это такой тип клеточного деления, при котором из одной диплоидной клетки после редупликации ее хромосом образуются четыре гаплоидные дочерние клетки, различающиеся по генетическим характеристикам. То есть, в результате мейоза происходит *редукция* (уменьшение) диплоидного числа хромосом до гаплоидного, сопровождающаяся *рекомбинацией* генов между гомологичными хромосомами. Мейоз является механизмом созревания половых клеток и образования зрелых, дифференцированных гамет – *яйцеклеток* и *сперматозоидов* (*спермиев*).

Мейоз включает в себя два последовательных деления без стадии репликации ДНК между ними. Удвоение ДНК происходит только один раз – в интерфазе перед первым делением мейоза. После завершения интерфазы клетки с хромосомным набором 2*n*4*c* вступают в продолжительную (от суток до нескольких лет!) профазу первого, или *редукционного,* деления мейоза – *профазу I*.

В профазе I протекают важнейшие процессы, связанные с генетической рекомбинацией, благодаря которой формируются качественно различные генотипы (и, соответственно, фенотипы) потомства при половом размножении. Наряду с этим, как и в профазе митоза, происходит компактизация хромосом, разрушение ядерной оболочки, построение веретена деления и т.д. Исходя из многообразия и постепенности происходящих в ней процессов, профазу I делят на несколько стадий – *лептотену, зиготену*, *пахитену* и *диплотену*.

Лептотена, или *стадия тонких нитей* (рис. 103, а) напоминает раннюю профазу митоза, но хромосомы здесь гораздо более тонкие (менее компактные), на них отчетливо видны хромомеры. У некоторых животных хромосомы образуют своеобразную фигуру «*букета*» – хромосомы сближаются, изгибаются и связываются своими теломерными (концевыми) участками с ядерной оболочкой. У некоторых растений профазные хромосомы собираются в клубок (*синезис*).

Зиготена, или *стадия объединенных нитей*. В зиготене (рис. 103, б) происходит сближение удвоенных гомологичных хромосом между собой и их *конъюгация* (слияние, объединение) в единый хромосомный комплекс из четырех хроматид – *тетраду*, или *бивалент*. При этом во всех четырех хроматидах соответствующие (гомологичные) гены стоят строго напротив друг друга. Напомним, что гомологичные хромосомы различаются по происхождению – одна была получена в свое время (в момент оплодотворения) от отца, а другая от матери. Поэтому один и тот же ген в гомологичной паре (в материнской и отцовской хромосомах) может нести разные варианты мутаций (т.е. различаться по степени выраженности кодируемого им признака): $\boldsymbol{A}$ и $\boldsymbol{A_1}$, $\boldsymbol{A}$ и $\boldsymbol{A_2}$, …, $\boldsymbol{A}$ и $\boldsymbol{a}$. Такие парные гены, различающиеся по качеству проявления одного и того же признака, называют *аллельными генами*, или просто *аллелями*.

Пахитена, или *стадия толстых нитей***.** В пахитене (рис. 103, в) конъюгированные гомологичные хромосомы начинают спирализоваться (утолщаться) и обмениваться между собой отдельными гомологичными участками (содержащими аллельные гены) – этот процесс взаимного обмена получил название *кроссинговер*. Кроссинговер происходит в пределах каждого бивалента и охватывает все четыре хроматиды, входящие в его состав. Генетическим следствием кроссинговера является рекомбинация отцовских и материнских аллельных генов и образование новых вариантов хроматид в составе бивалентов (теперь все четыре хроматиды отличаются друг от друга по набору аллелей) (рис. 104).

Диплотена, или *стадия двойных нитей*. На этой стадии (рис. 103, г) гомологичные хромосомы начинают разъединяться и отталкиваться друг от друга (при этом сестринские хроматиды каждой хромосомы остаются соединенными по всей длине). В некоторых местах хромосомы остаются связанными; такие места сцепления (перекреста) хромосом образуют характерные фигуры – *хиазмы* (рис. 104). В местах хиазм происходит разрыв несестринских хроматид в гомологичной паре хромосом, сопровождающийся обменом участками, или кроссинговером. По мере расхождения хромосомы продолжают компактизоваться и укорачиваться.

В отличие от профазы митоза, в профазе I мейоза хромосомы частично сохраняют свою транскрипционную активность – морфологически это проявляется в наличии эухроматиновых петель на частично конденсированных профазных хромосомах, а также сохранением ядрышек. Более того, в пахитене рибосомная (ядрышковая) ДНК часто *амплифицируется* (многократно копируется) с образованием множественных дополнительных ядрышек. Активация транскрипции в пахитене и особенно в диплотене совпадает с ростом формирующихся половых клеток, главным образом, женских, – именно в это время клетка интенсивно синтезирует и запасает белки для обеспечения раннего развития будущего зародыша. Кроме того, в профазе I происходит синтез некоторой доли ДНК (около 1 % от общей массы генома), которая, главным образом, участвует в *репарации* (восстановлении) ДНК, повреждающейся в результате кроссинговера.

Иногда клетки могут вступать в дополнительную стадию профазы – ***диакинез***. Диакинез характеризуется уменьшением числа хиазм, укорочением (компактизацией) бивалентов, потерей ядрышек. Эта стадия является переходной между профазой и собственно делением клетки (рис. 103, д).

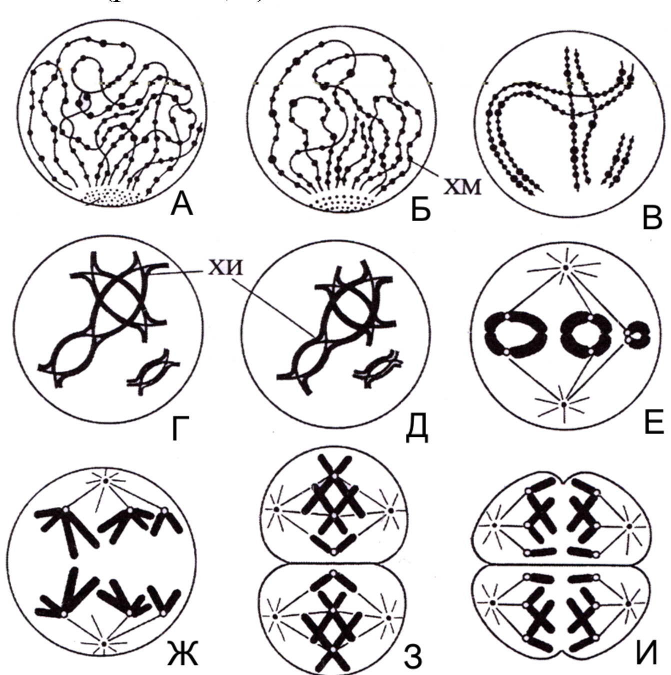


Рис. 103. Стадии мейоза. а—д – профаза I (а – лептотена, б – зиготена, в – пахитена, г – диплотена, д – диакинез), е – метафаза I, ж – анафаза I, з – метафаза II, и – анафаза II. ХМ – хромомеры, ХИ - хиазмы (по: Ченцов, 2004).

По завершению профазы I, клетка вступает в ***метафазу I***, во время которой биваленты выстраиваются в экваторе клетки (рис. 103, е). В ***анафазе I*** происходит расхождение хромосом к полюсам, но в отличие от митоза, расходятся не сестринские хроматиды от каждой хромосомы, а целые хромосомы, состоящие из двух хроматид каждая. При этом происходит редукция диплоидного набора на два гаплоидных, поскольку каждая пара (каждый бивалент) разбивается на два гомолога, которые отходят к противоположным

полюсам, и такая редукция происходит по каждой паре хромосом (рис. 103, ж). В ***телофазе I*** клетка разделяется на две дочерние клетки с хромосомным набором 1*n*2*c* каждая (для сравнения: после митоза дочерние клетки имели набор 2*n*2*c*).

Вслед за телофазой первого деления следует короткая интерфаза, в которой отсутствует S-период, т.е. выпадает стадия репликации ДНК. Клетки с набором 1*n*2*c* вступают во второе, или *эквационное*, деление мейоза, которое по механизму не отличается от митоза. После короткой ***профазы II*** клетки вступают в ***метафазу II***, где удвоенные хромосомы выстраиваются по экватору (рис. 103, з), после чего следует разделение хромосом на хроматиды и расхождение хроматид в ***анафазе II*** (рис. 103, и). Результатом ***телофазы II*** является образование четырех зрелых гаплоидных гамет (1*n*1*c*) (по две из каждой 1*n*2*c* клетки), различающиеся по генетическому содержанию. Различия в наборе генов обусловлены тем, что в результате кроссинговера в профазе I все четыре хроматиды внутри каждого бивалента обменялись гомологичными участками, содержащими аллельные гены, а при дальнейшем расхождении попали в четыре разные клетки. Основные отличия мейоза от митоза обобщены на рисунке 105.

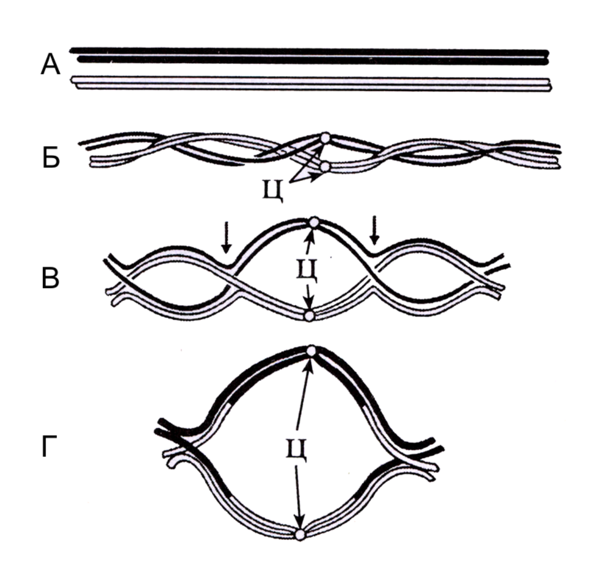


Рис. 104. Схема кроссинговера. А – парные гомологи, лежащие отдельно; Б – их спирализация в пахитене; В – расположение хроматид в диплотене; Г – диакинез. Стрелки указывают на места кроссинговера. Ц – центромерные участки хромосом (по: Ченцов, 2004).

8.4. Гаметогенез

Как уже говорилось, мейотическое деление составляет основу созревания половых клеток. Процесс образования зрелых гаплоидных гамет из их диплоидных предшественников называют *гаметогенезом*. Гаметогенез включает в себя несколько стадий, в ходе которых осуществляется поэтапная дифференцировка половых клеток, сопровождающаяся редукцией хромосомного набора и существенным преобразованием цитоплазмы. Различают *сперматогенез* (развитие мужских половых клеток) и *оогенез* (развитие женских половых клеток).

Линия половых клеток ведет свое начало от *первичных половых клеток*, или *гоноцитов*, которые обособляются от соматических клеток на самых ранних стадиях эмбрионального развития организма, задолго до появления *гонад* (половых желез). Поскольку гоноциты, так же, как и все прочие клетки организма, являются результатом митотического деления зиготы – *дробления*, то они имеют такой же диплоидный хромосомный набор (2*n*2*c*), не отличающийся ни от набора зиготы, ни от набора соматических клеток.

В цитоплазме гоноцитов часто обнаруживаются характерные структуры, называемые *половыми детерминантами*, или *половыми маркерами*. Эти структуры выявляются у многих животных уже в яйце; в ходе дальнейшего дробления зиготы они передаются не во все клетки, а только в некоторые. Клетки, получившие в результате дробления половые маркеры,

превращаются в гоноциты и в дальнейшем будут дифференцироваться с образованием зрелых гамет (рис. 106).

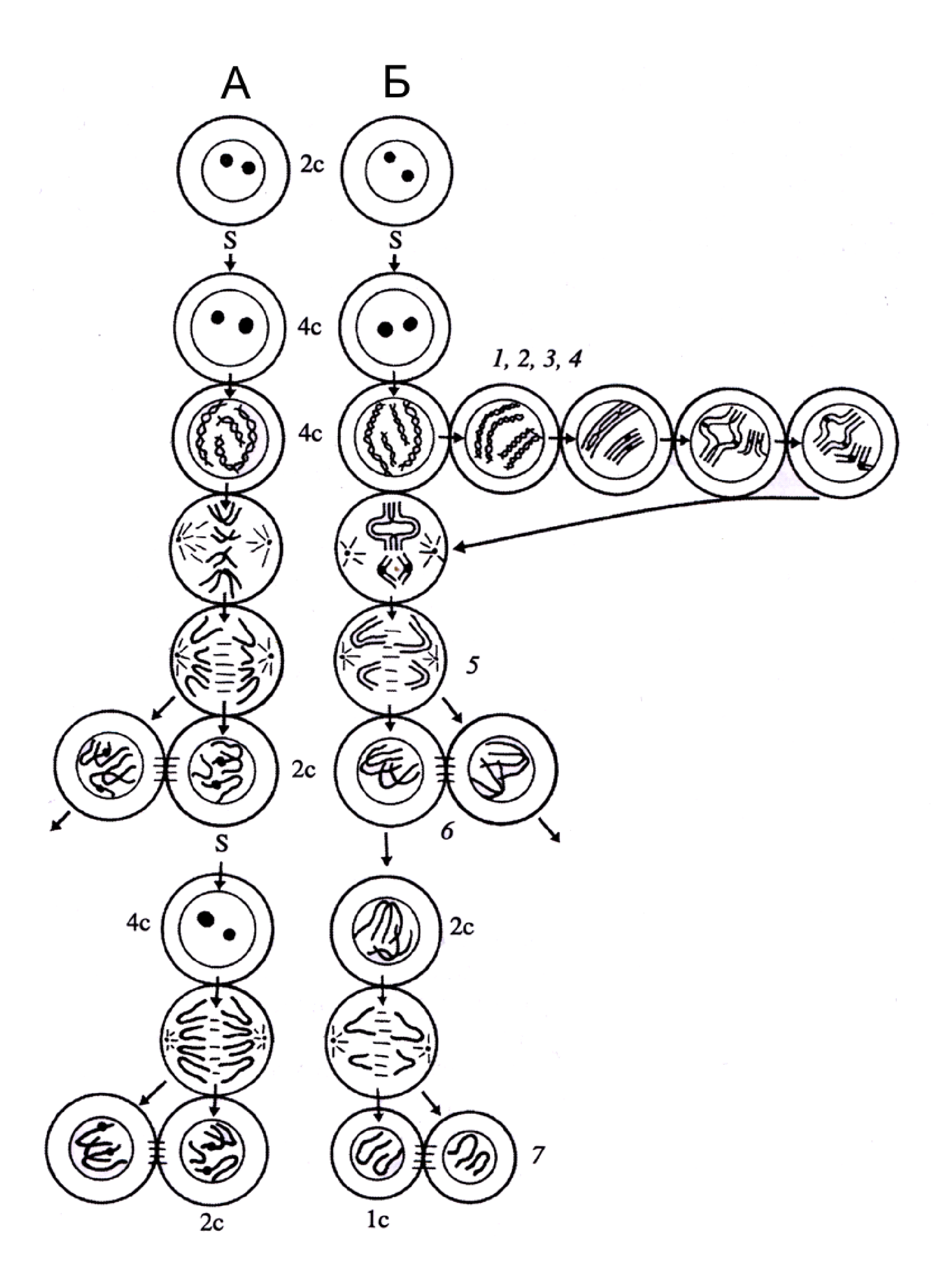


Рис. 105. Сравнение клеточных делений при митозе (А) и мейозе (Б). Мейоз отличается: 1 – растянутой во времени профазой первого деления, 2 – конъюгацией гомологичных хромосом, 3 – кроссинговером, 4 – активацией транскрипции, 5 – расхождением удвоенных гомологичных хромосом в анафазе первого деления, 6 – отсутствием S-периода между двумя делениями, 7 – образованием гаплоидных клеток (по: Ченцов, 2004).

До момента образования гонад гоноциты блуждают в теле зародыша (эмбриона) – они способны к самостоятельному передвижению. После вселения в гонаду гоноциты теряют подвижность, увеличиваются в размерах и начинают активно размножаться. На этой стадии они перестают называться гоноцитами и превращаются в *гонии*. Если гоноциты попадают в формирующийся *семенник* (мужская гонада), то под действием мужских половых горомонов они превращаются в *сперматогонии*; соответственно, если гоноциты попадают в *яичник*, то под действием женских половых гормонов они превращаются в *оогонии*.

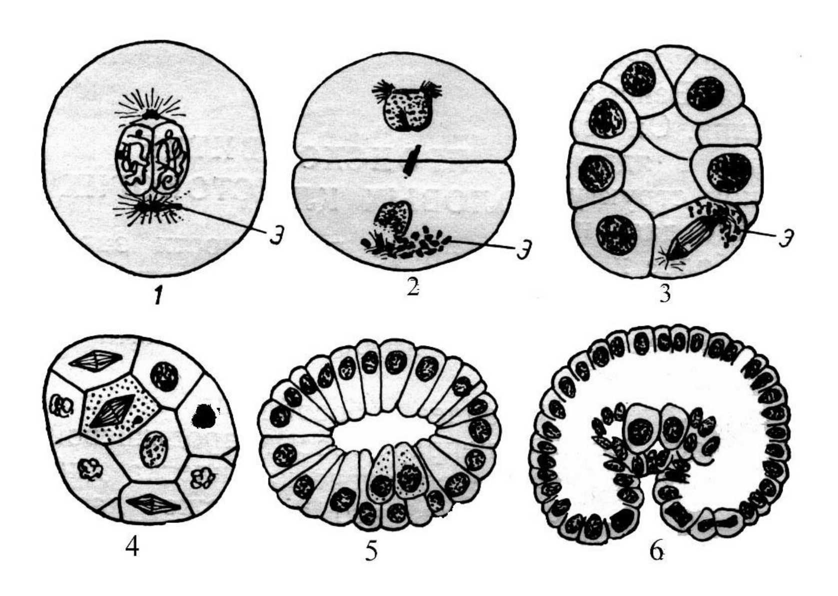


Рис. 106. Обособление гоноцитов у веслоногого рака. 1 – зигота, 2 – стадия двух бластомеров, 3 и 4 – ранняя бластула, 5 – поздняя бластула, 6 – гаструла. Э – эктосомы (половые маркеры) (по: Шарнио-Коттон, 1962).

8.4.1. Сперматогенез

Сперматогенез делят на четыре стадии. Разберем их.

I. Стадия размножения. На стадии размножения (рис. 107, А, *слева*) диплоидные сперматогонии (2*n*2*c*) размножаются митозом и образуют множественные *клоны* сперматогониев. При образовании клона цитотомия между клетками полностью не завершается, в результате чего клетки остаются связанными друг с другом цитоплазматическими мостиками. В дальнейшем все процессы сперматогенеза протекают внутри каждого клона синхронно. Число делений сперматогониев в клоне видоспецифично (от 1 до 14 делений). Соответственно, размер клона сперматогониев также видоспецифичен.

Размножение сперматогониев у особей мужского пола начинается в зародышевом периоде и продолжается в течение всей жизни индивидуума. После достижения половой зрелости возникают периодические всплески митотической активности, в результате чего запас сперматозоидов регулярно пополняется.

II. Стадия роста. На стадии роста (рис. 107, В, *слева*) клетки готовятся вступить в мейоз. Сперматогонии (2*n*2*c*) проходят репликацию ДНК и вступают в профазу первого (редукционного) деления мейоза. На этой стадии мужская половая клетка называется *сперматоцит первого порядка*, или *сперматоцит I* (2*n*4*c*). В сперматогенезе профаза I включает в себя четыре стадии – лептотену, зиготену, пахитену и диплотену (см. выше). В профазе I происходят процессы, приводящие к рекомбинации генов, – конъюгация и кроссинговер, а также осуществляется *собственно рост* сперматоцитов, связанный с увеличением объема цитоплазмы, накоплением внутриклеточных структур и т.д. Как уже отмечалось выше, рост клеток в профазе первого деления мейоза становится возможным благодаря сохранению синтетической активности хромосом.

III. Стадия созревания. Стадия созревания (рис. 107, С, *слева*) включает в себя два последовательно идущих деления мейоза. В результате первого деления сперматоцит

первого порядка (2*n*4*c*) образует два *сперматоцита второго порядка* (*сперматоциты II*) (1*n*2*c*) – при этом расходятся гомологичные хромосомы, и диплоидный набор подвергается редукции. Сперматоциты II отличаются друг от друга по генетическому содержанию, поскольку гомологичные хромосомы несут разные варианты (аллели) одних и тех же генов. Затем каждый сперматоцит II делится с образованием двух *сперматид* (1*n*1*c*), которые также различны между собой, поскольку обе хроматиды каждой хромосомы неравнозначны по набору аллелей из-за перетасовки, произошедшей в результате кроссинговера.

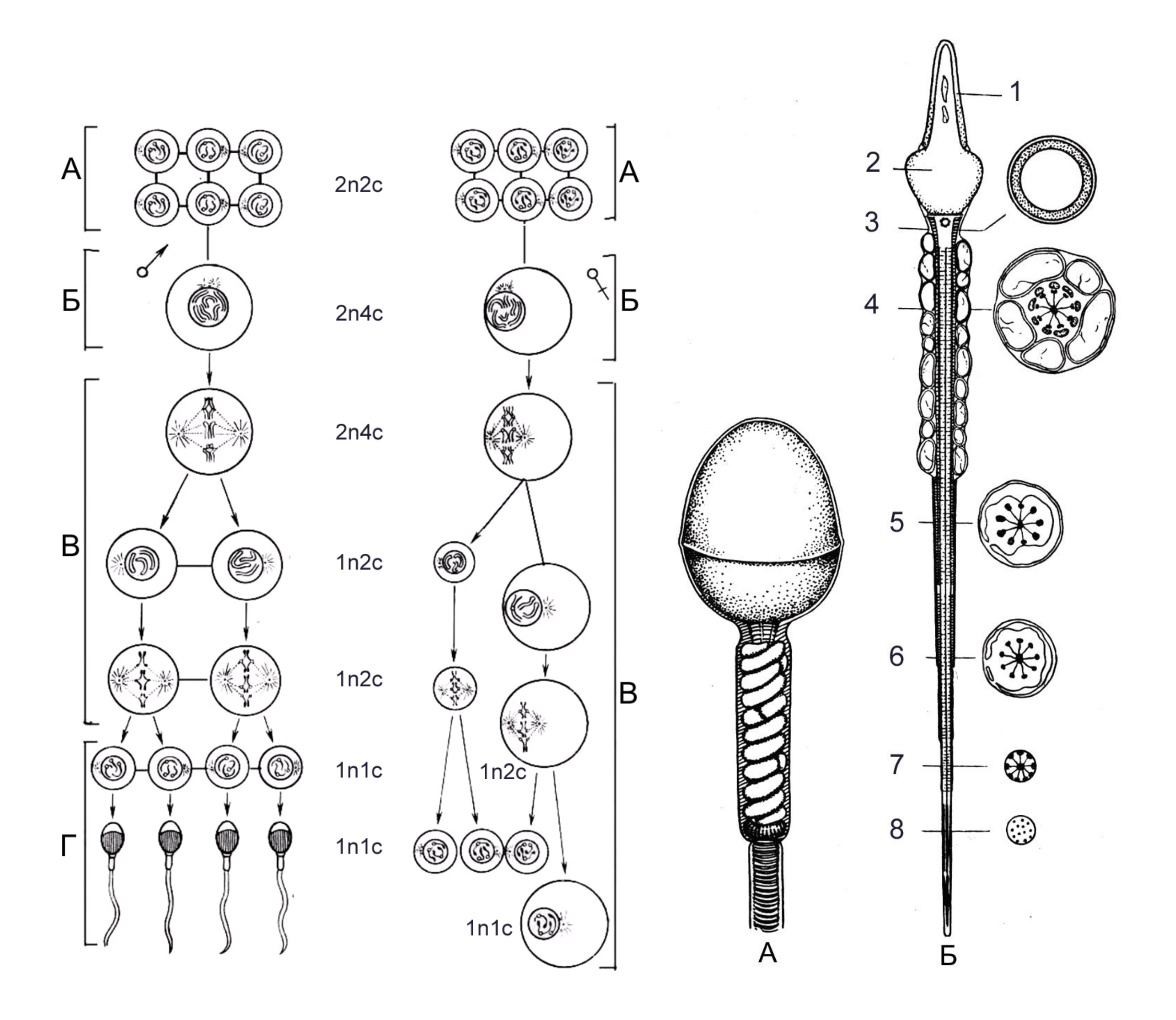


Рис. 107. Образование сперматозоидов (слева) и яйцеклеток (справа) у животных и человека. А – стадия размножения, В – стадия роста, С – стадия созревания, D – стадия формирования (по: Мюнтцинг, 1963).

Рис. 108. Схема строения сперматозоида млекопитающего. А – вид спереди, Б – вид сбоку. 1 – акросома, 2 – ядро, 3 – шейка (содержит центриоль), 4 – начальный отдел хвоста (содержит митохондрии), 5 и 6 – средний отдел хвоста, 7 и 8 – конечный отдел хвоста (по: Иванов, 1962).

IV. Стадия формирования, или спермиогенез. После установления гаплоидного хромосомного набора начинаются процессы преобразования цитоплазмы сперматид и формирование зрелых спермиев (рис. 107, D, *слева*). В ядре происходит дополнительная компактизация хроматина, в результате чего хроматин превращается в плотное кристаллическое образование с полным отсутствием транскрипции и репликации. Часто исчезают ядерная оболочка (например, у многих нематод) и ядрышки. Большая часть

цитоплазмы отбрасывается, на основе аппарата Гольджи формируется *акросомный аппарат*, или *акросома* – вакуоль, содержащая гидролитические ферменты, предназначенные для растворения оболочки яйцеклетки. Акросома обычно покрывает ядро спермия сверху наподобие шапочки. Если данному биологическому виду свойственны «хвостатые» спермии – сперматозоиды, то на основе центриолей формируются компоненты шейки и хвостового отдела, или жгутика. В передней части хвоста (жгутика) нередко сосредоточены митохондрии, необходимые для энергетического обеспечения работы тубулин-динеиновой двигательной системы (рис. 108).

8.4.2. Оогенез

В оогенезе выделяют те же стадии, что и в сперматогенезе, за исключением стадии формирования.

I. Стадия размножения. Так же, как и сперматогонии, оогонии размножаются митозом (рис. 107, А, *справа*), образуя клоны оогониев. У большинства беспозвоночных и низших позвоночных животных популяция оогониев сохраняет способность к делению на протяжении всего репродуктивного периода жизни. У человека стадия размножения оогониев ограничена во времени: пик митотической активности оогониев приходится на промежуток между вторым и пятым месяцами внутриутробного развития, когда число оогониев возрастает от нескольких тысяч до 7 миллионов. К седьмому месяцу стадия размножения завершается, большая часть оогониев дегенерирует, и их остается около 300 тысяч.

II. Стадия роста. Прекратив размножаться, оогонии удваивают ДНК и вступают в профазу I мейоза. С момента вступления в профазу оогонии превращаются в *ооциты первого порядка* (*ооциты I*) (рис. 107, В, *справа*).

Как уже отмечалось, профаза мейоза у разных животных имеет разную продолжительность. В оогенезе, помимо основных стадий профазы I (лептотена, зиготена, пахитена, диплотена), имеется дополнительная, пятая стадия – диакинез (см. выше). На этой стадии течение мейоза, как правило, замедляется и приостанавливается – наступает так называемый *блок мейоза*. Блок мейоза может продолжаться годами, пока организм не достигнет половозрелости.

Во время роста ооцит накапливает большое количество органоидов, АТФ, РНК, рабочих белков, а также запас питательных веществ. Рост ооцита неравномерен: выделяют *малый (цитоплазматический) рост* и *большой (трофоплазматический) рост*. Во время малого роста клетка увеличивается незначительно и в основном за счет накопления РНК, рибосом, митохондрий и других неспецифических компонентов цитоплазмы; этот рост сопоставим с ростом сперматоцитов. Во время большого роста происходит накопление в цитоплазме ооцита питательных веществ – белков, липидов, углеводов, витаминов, минеральных солей. Основным компонентом «стратегического запаса» ооцита является *желток* – сложный липофосфопротеидный комплекс, частицы которого откладываются в ооплазме в виде крупных гранул или пластинок. В течение периода большого роста размеры ооцита многократно возрастают и могут достигать огромных величин. Так, у птиц нагруженное желтком яйцо в миллионы раз превышает исходные размеры ооцита; ооцит дрозофилы увеличивается в 90 000 раз, лягушки – в 64 000 раз, млекопитающих – примерно в 40 раз.

Механизмы накопления желтка различаются у разных животных. Ооцит либо сам накапливает желток (за счет собственной транскрипционной деятельности) – *солитарный тип оогенеза*, либо получает уже готовый желток от вспомогательных клеток – *алиментарный тип оогенеза*. В качестве вспомогательных клеток, окружающих ооцит, могут выступать либо сестринские половые клетки (оогонии, принадлежащие тому же клону, что и растущий ооцит, которые не перешли в стадию роста, а превратились в питающие клетки *трофоциты*), либо соматические *фолликулярные клетки*, образующие вокруг растущего

ооцита пузырек – *фолликул* (рис. 109). Именно такой фолликулярный тип оогенеза характерен, в частности, для млекопитающих.

III. Стадия созревания. Выход из диакинеза и начало *делений созревания* (мейоз) происходит под строгим гормональным контролем. У млекопитающих растущий фолликул выполняет еще и роль эндокринной железы. По завершении стадии роста фолликулярные клетки вырабатывают женские половые стероидные гормоны – *эстрагены* (*эстрадиол* и *прогестерон*). Критическая концентрация эстрагенов в крови приводит к выработке *гонадотропных гормонов* передней доли гипофиза, которые стимулируют ооцит I к делениям созревания (мейозу) и *овуляции* (выходу ооцита из фолликула), а также подготавливают матку и молочные железы к возможному оплодотворению. Овуляция также контролируется прогестероном, который синтезируется непосредственно самим фолликулом. Большие количества прогестерона могут спровоцировать овуляцию сразу в нескольких фолликулах, что повышает вероятность рождения разнояйцевых близнецов.

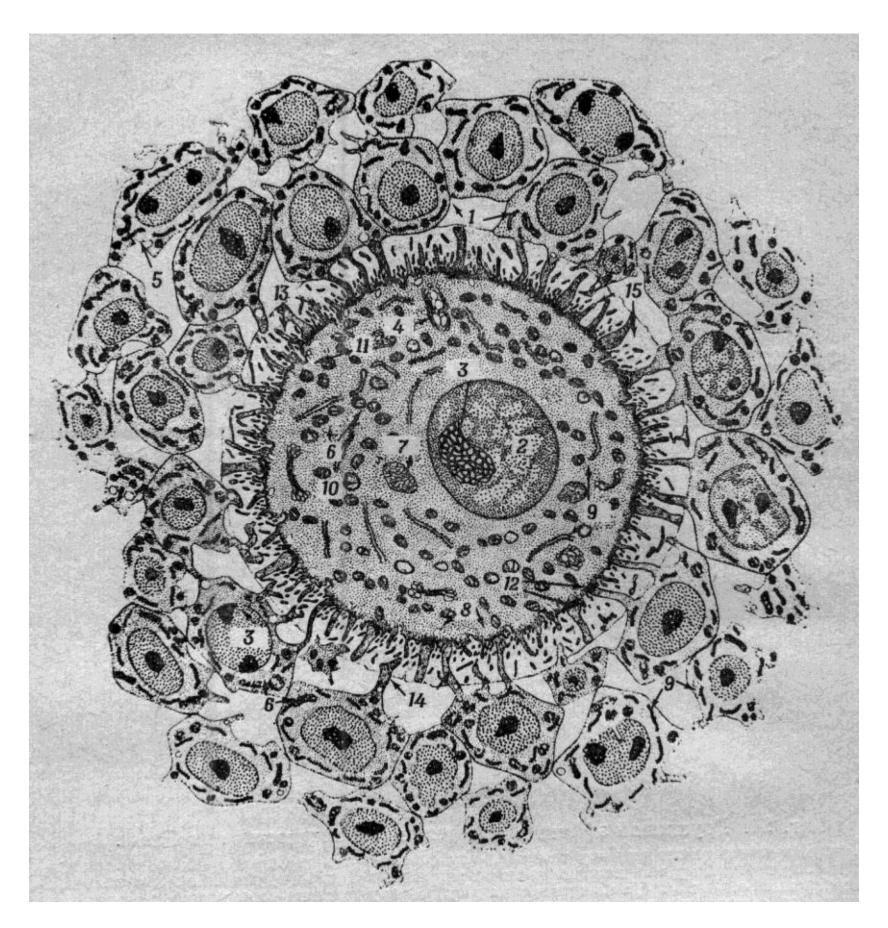


Рис. 109. Схема строения молодого фолликула млекопитающего. 1 – фолликулярные клетки, 2 – ядро ооцита, 3 – ядрышко, 4 – аппарат Гольджи ооцита, 5 – мембрана фолликулярной клетки, 6 – митохондрии, 7 – мультивезикулярное тело, 8 – пиноцитозные пузырьки, 9 – эндоплазматический ретикулум, 10 – желточная гранула, 11 – пиноцитозные впячивания плазматической мембраны ооцита, 12 – контакты между ооцитом и отростками фолликулярных клеток, 13 – микроворсинки ооцита, 14 – выросты фолликулярных клеток, 15 – блестящая оболочка яйца (zona pellucida) (по: Газарян, Белоусов, 1983).

В делениях созревания цитоплазма ооцита I распределяется между дочерними клетками неравномерно (рис. 107, С, *справа*). В первом делении мейоза ооцит I (2*n*4*c*) делится с образованием двух клеток (1*n*2*c*). Одна из дочерних клеток сохраняет весь объем цитоплазмы с накопленным желтком – это *ооцит второго порядка* (*ооцит II*). Вторая клетка намного меньше: она содержит лишь ядро с хромосомами и небольшой слой окружающей цитоплазмы с центриолью. Эта клетка называется *первым полярным тельцем*. Во втором делении ооцит II делится с образованием яйцеклетки (1*n*1*c*), сохраняющей весь объем цитоплазмы, и *второго полярного тельца* (1*n*1*c*). Первое полярное тельце также может

разделиться еще раз. Полярные тельца либо дегенерируют, либо выполняют некоторые вспомогательные функции – питательную, направительную и др.

После завершения второго деления мейоза хромосомы яйцеклетки разрыхляются и формируют гаплоидное интерфазное ядро – *женский пронуклеус*. Одновременно происходят изменения в цитоплазме яйцеклетки: она обводняется, повышается внутриклеточное давление, поверхностный слой цитоплазмы (кортикальный цитоскелет) приобретает свойства сократимости и т.д. Все эти изменения свидетельствуют о готовности яйцеклетки к важнейшему событию в ее жизни – *оплодотворению*.

Тема 9. Эмбриональное развитие животных

9.1. Общая характеристика онтогенеза

Индивидуальное развитие организма, или *онтогенез,* начинается слиянием родительских половых клеток и заканчивается его смертью. Новый организм появляется как одна единственная клетка – *зигота*, а заканчивает своё развитие системой, состоящей из миллиардов клеток двухсот различных типов, объединенных сложнейшими взаимодействиями в единое целое. Как появляется, развивается, управляется «клеточное государство», которое представляет собой многоклеточный организм, – вот главный вопрос биологии индивидуального развития.

Уже отмечалось, что наиболее предпочтительным способом размножения организмов, в смысле их эволюционного успеха, является половое размножение, в ходе которого образуются новые сочетания родительских признаков (генов). Таким образом, половой процесс обеспечивает разнообразие потомства и предоставляет обширный материал для естественного отбора. В этом случае развитие нового организма начинается с *оплодотворения* – слияния двух гаплоидных гамет и восстановления диплоидности в зиготе. После оплодотворения происходит серия митотических делений зиготы – *дробление*, в результате которого образуется многоклеточный однослойный зародыш – *бластула*. Затем клетки бластулы – *бластомеры* – перемещаются в пространстве и дифференцируются в разных направлениях, т.е. приобретают признаки специализации, принадлежности к тому или иному *эмбриональному зачатку*. Параллельно с этим клетки продолжают размножаться. Так образуется многослойный зародыш – *гаструла*. Затем из эмбриональных зачатков гаструлы – *зародышевых листков* – формируются первичные органы эмбриона, закладываются его важнейшие осевые структуры – *хорда*, *нервная трубка*, *сомиты* и т.д. (если речь идет о хордовых). Процесс образования органов из их зачатков называется *первичным органогенезом*. В последствии органы совершенствуются, приобретают законченный, зрелый вид (*вторичный органогенез*), и новая особь появляется на свет. На этом заканчивается период *эмбрионального* (*зародышевого*, *пренатального*) *развития* организма и начинается его *постэмбриональное* (*послезародышевое*, *постнатальное*) *развитие*. Выделяют также *предзародышевое развитие*, включающее в себя все процессы, связанные с образованием и развитием гамет.

Таким образом, в основе развития организма лежат процессы репродукции и дифференцировки клеток. В результате многократных митотических делений зиготы, начиная с дробления все клетки зародыша получают один и тот же диплоидный ($2n2c$) набор генов. В дальнейшем в клетках разных участков зародыша *избирательно* активируются разные группы генов (т.е. синтезируются разные белки), благодаря чему клетки с одним и тем же генетическим содержанием приобретают различные черты – дифференцируются, специализируются на выполнение разных функций. Другими словами, *в основе специализации клеток многоклеточного организма лежит дифференциальная экспрессия генов*.

9.2. Оплодотворение

Оплодотворение – это процесс слияния двух половых клеток, в результате которого происходит восстановление диплоидного набора хромосом, объединение генетического материала родителей с возникновением качественно нового генотипа, а также активация яйцеклетки к дальнейшему развитию.

Оплодотворение осуществляется в несколько этапов.

1. Сближение гамет. Начальный этап оплодотворения связан с процессами, обеспечивающими гарантированную встречу гамет. Встрече сперматозоида с яйцом способствуют: координирование процессов гаметогенеза у самца и самки и одновременность наступления стадии готовности к оплодотворению; различные приспособления, связанные с совокуплением и осеменением; избыточная продукция сперматозоидов; крупные размеры яйца; специальные вещества-аттрактанты, выделяемые половыми клетками для привлечения гамет противоположного пола.

2. Проникновение сперматозоида в яйцо и активация яйцеклетки. Проникновение сперматозоида в яйцо осуществляется благодаря *акросомной реакции*. Напомним, что акросома – это вакуоль на переднем конце сперматозоида, которая содержит гидролитические ферменты, растворяющие оболочку яйца. При контакте мембран двух гамет акросома вскрывается (по механизму экзоцитоза), и ее содержимое вбрасывается на поверхность яйца. В этом месте происходит локальное разрушение яйцевой оболочки, и сперматозоид (либо только его ядро) проникает в яйцеклетку. Сразу после этого происходит *кортикальная реакция* со стороны яйцеклетки, приводящая к формированию вокруг нее *оболочки оплодотворения*, непроницаемой для остальных сперматозоидов (рис. 110). Кортикальная реакция развивается в два этапа. Сначала на поверхности яйца возникает кратковременный электрический заряд; волна деполяризации мембраны распространяется по всей поверхности яйцеклетки и «отпугивает» сперматозоиды. Немного позже происходит экзоцитоз особых *кортикальных гранул*, локализующихся в поверхностном слое цитоплазмы яйца; содержимое кортикальных гранул распространяется по поверхности яйцеклетки и принимает участие в формировании оболочки оплодотворения. Последняя затем отслаивается от мембраны яйцеклетки, и образуется *перивителлиновое пространство*. За счет создания оболочки оплодотворения в природе выполняется *правило моноспермии* – только один сперматозоид может проникнуть в яйцо. *Полиспермия* у большинства видов приводит к тяжелым уродствам.

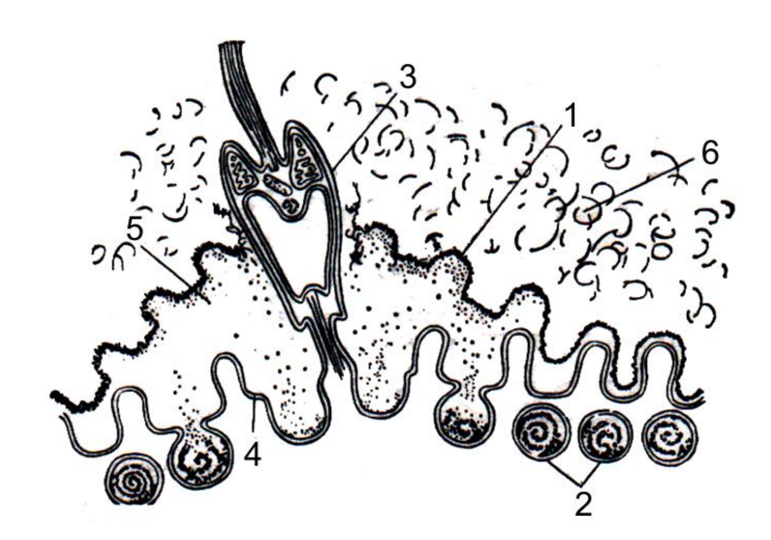


Рис. 110. Проникновение сперматозоида в яйцо, сопровождающееся кортикальной реакцией. 1 – оболочка оплодотворения, 2 – кортикальные гранулы, 3 – мембрана сперматозоида, 4 – мембрана яйца, 5 – перивителлиновое пространство (по: Биологический энциклопедический словарь, 1989).

Параллельно с кортикальной реакцией в яйцеклетке активируется синтез белков; при этом молекулы иРНК, накопленные еще в оогенезе в период роста ооцита, вступают во взаимодействие с рибосомами, формируя полисомы.

3. Сингамия (слияние ядер), или собственно оплодотворение. После того, как ядро сперматозоида проникло в яйцеклетку, оно разрыхляется (за счет декомпактизации хромосом), принимает интерфазный вид и превращается в *мужской пронуклеус*. Мужской пронуклеус начинает движение навстречу ядру яйцеклетки – *женскому пронуклеусу*; это движение часто имеет причудливую траекторию и потому получило лирическое название «танец пронуклеусов». В движении мужского пронуклеуса внутри яйца принимает участие центриоль сперматозоида, которая движется впереди ядра, создавая вокруг себя характерное «полярное сияние» из микротрубочек. В конце концов, женский и мужской пронуклеусы объединяются в центре свободной от желтка цитоплазмы и образуют характерную структуру – *синкарион*. Затем наступает полное слияние пронуклеусов с образованием единого диплоидного ($2n2c$) ядра зиготы. Именно этот момент – *сингамия* – знаменует собой истинное генетическое оплодотворение. После слияния пронуклеусов в ядре зиготы происходит удвоение ДНК ($2n4c$). Иногда репликация осуществляется еще до образования зиготы – в процессе движения пронуклеусов друг навстречу другу. В этом случае каждый пронуклеус на момент оплодотворения будет содержать хромосомный набор $1n2c$, а образующееся диплоидное ядро зиготы – $2n4c$. В таком виде зигота готова сразу приступить к первому делению дробления. Конечной стадией сингамии принято считать образование хромосомной метафазной пластинки первого деления зиготы.

4. Сегрегация цитоплазмы яйца, или ооплазматическая сегрегация. Сразу после оплодотворения цитоплазма яйца (ооплазма) начинает активно перемещаться и перераспределяться, в результате чего в ней образуются строго направленные потоки вещества. Этот процесс называется *ооплазматической сегрегацией*. Следует отметить, что цитоплазма яйцеклетки имеет важнейшее значение для развития будущего организма: она содержит не только питательный материал – желток, но и особые регуляторные молекулы – *морфогенетические детерминанты*, или *морфогены*, во многом определяющие дальнейшую специализацию частей зародыша. Особенно много таких молекул выявляется в кортикальном слое (*кортексе*) яйцеклетки (рис. 111). В результате ооплазматической сегрегации морфогены неравномерно распределяются по цитоплазме оплодотворенного яйца, и после деления зиготы разные детерминанты оказываются в разных бластомерах. Морфогенетические детерминанты способствуют избирательному включению-выключению различного набора генов в разных бластомерах, что определяет различные пути дифференцировки этих клеток.

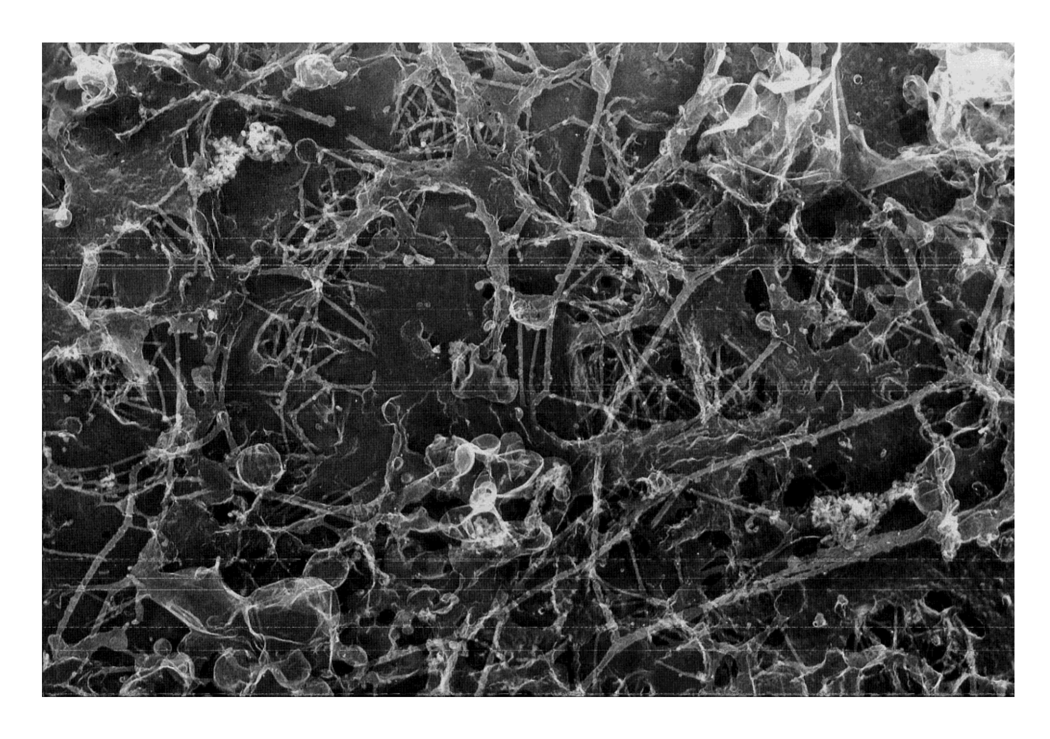


Рис. 111. Электронная сканирующая микрофотография участка кортекса яйцеклетки. Желточные капли, кортикальные гранулы и другие компоненты ооплазмы связаны сетью кортикального цитоскелета (по: Чанг, 1999).

9.3. Дробление

Через некоторое время после оплодотворения яйцеклетка, называемая теперь зиготой, начинает дробиться. Особенностью дробления, отличающей его от серии обычных делений соматических клеток, является выпадение из клеточного цикла G_1- и G_2-периодов, в ходе которых должны происходить биосинтез веществ и рост клеток. Фактически, дробление представляет собой чередование репликации ДНК (S-периода) и митоза. В результате в каждом митотическом цикле размеры делящихся бластомеров уменьшаются при сохранении размеров ядер; другими словами, отношение объема ядра к объему цитоплазмы (*ядерно-цитоплазматическое отношение*) увеличивается (рис. 112). Принимая во внимание, что в ходе большого роста ооцитов в оогенезе это отношение было резко уменьшено (за счет накопления желтка и прироста цитоплазмы), можно сказать, что при дроблении восстанавливаются нормальные пропорции клеток.

Благодаря укорочению клеточного цикла при дроблении достигается высокая скорость клеточных делений. Эта скорость еще дополнительно увеличивается за счет синхронизации митоза в разных бластомерах, а также одновременной инициации репликации во всех репликонах (участках ДНК, реплицирующихся независимо друг от друга) внутри каждого отдельного бластомера.

После того, как пройдет определенное число делений дробления, и зародыш будет состоять из нескольких сотен клеток, бластомеры образуют единую первичную зародышевую ткань – *бластодерму*. Бластодерма возникает в результате *эпителизации* клеток стенки зародыша, в ходе которой между бластомерами увеличивается площадь контакта, они уплощаются, формируя сплошной замкнутый клеточный пласт. Так возникает однослойный зародыш – *бластула*; при этом однослойность – понятие не столько морфологическое, сколько функциональное: морфологически бластомеры могут образовывать и несколько слоев, однако эти клетки еще не специализированы. В большинстве случаев внутри бластулы образуется полость – *бластоцель*, которая соответствует *первичной полости тела* (рис. 112). Процесс образования бластулы из группы бластомеров обозначают понятием *бластуляция*.

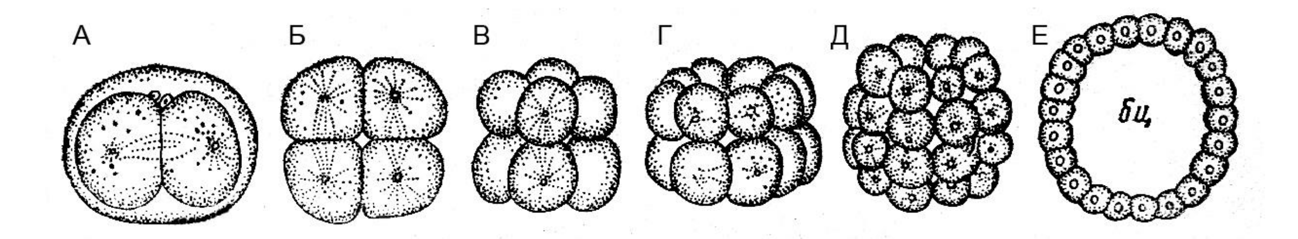


Рис. 112. Последовательные стадии дробления зиготы иглокожих (по: Токин, 1987). А, В—Е – вид сбоку; Б – вид сверху; Е – бластула (бц – бластоцель).

В ходе бластуляции клетки продолжают делиться, но деление теперь носит асинхронный характер. В клеточном цикле появляется фаза G_1, а это значит, что в клетках запускаются собственные синтетические процессы, ядерно-цитоплазматические отношения перестают увеличиваться. Зародыш начинает развиваться не как колония отдельных клеток-бластомеров, а как единый многоклеточный организм.

Дробление различается у разных животных и зависит от количества желтка в яйце. По количеству желтка яйца подразделяют на несколько типов: *алецитальные* (безжелтковые) яйца характерны для некоторые беспозвоночных, а также млекопитающих; *олиголецитальные* (маложелтковые) яйца свойственны моллюскам, иглокожим, червям; *мезолецитальные* (среднее количество желтка) яйца встречаются у осетровых рыб, амфибий; *полилецитальные* (много желтка) яйца характерны для членистоногих, костистых рыб, рептилий, птиц. Большое количество желтка затрудняет дробление, поэтому *вегетативный* (нижний) *полюс* яйца, где в большинстве случаев концентрируется желток, делится медленнее, чем *анимальный* (верхний) *полюс*, или вообще не делится. В соответствии с этим выделяют *полное* и *неполное дробление*. Первый тип дробления наблюдается в случае небольшого количества желтка в яйцах (а-, олиго- и мезолецительные яйца), второй тип – в случае полилецитальных яиц. Полное дробление в свою очередь бывает *равномерным* и *неравномерным* – в зависимости от распределения желтка в яйце. В результате разных типов дробления возникают разные типы бластул (рис. 113). В ходе равномерного дробления все бластомеры получают одинаковое количество желтка и имеют, соответственно, одинаковый размер (в силу изначально равномерного распределения желтка в яйце) (рис. 113, а, б). Если же желток преимущественно располагался в вегетативном полюсе яйца, то при дроблении богатые желтком вегетативные бластомеры успевают пройти меньшее число делений, чем анимальные. В результате такого неравномерного дробления размеры клеток на разных полюсах бластулы оказываются неодинаковыми, а бластоцель смещается к анимальному полюсу (рис. 113, в). В случае неполного дробления делится только небольшая часть свободной от желтка цитоплазмы – обычно она располагается в виде диска на анимальном полюсе яйца. В результате такого дробления дисковидный зародыш покоится на нераздробившейся массе желтка (рис. 113, г, д).

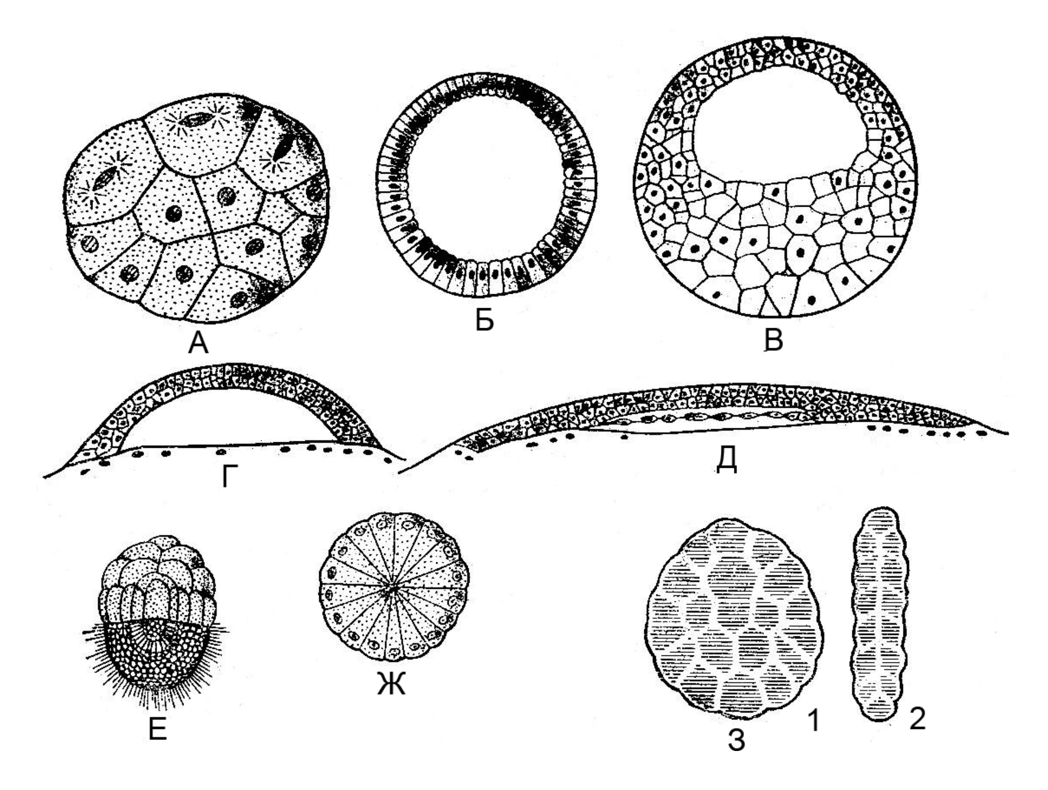


Рис. 113. Типы бластул (по: Токин, 1987). А – морула (млекопитающие) – бластула без бластоцеля; Б – целобластула (морской ёж) – образуется при делении яйцеклетки с минимальным количеством желтка; В – амфибластула (амфибии) – образуется при делении яйцеклетки со средним количеством желтка; Г, Д – дискобластула (костистые рыбы, птицы) – образуется при делении яйцеклетки с большим количеством желтка, бластула лежит на желтке; Е – плавающая амфибластула губки; Ж – стерробластула *Lucernia* – бластоцель отсутствует; З – плакула *Cuculanus elegans* – уплощённая морула, вид с поверхности (1) и сбоку (2).

9.4. Гаструляция

Следующий этап развития – *гаструляция* – связан с образованием двухслойного и, далее, трехслойного зародыша – *гаструлы*. При гаструляции происходит активная миграция клеток и целых участков стенки бластулы, что приводит к их резкому перераспределению, – клетки занимают новое положение и приобретают новых соседей. Во время гаструляции устанавливается план строения многослойного тела животного – определяются его основные оси и плоскости, закладываются *зародышевые листки* – специализированные клеточные пласты, которые в последствии дадут начало всем тканям и органам. У низших животных (губки, кишечнополостные) формируется два зародышевых листка – *эктодерма* и *энтодерма*. У остальных многоклеточных животных имеется третий зародышевый листок – *мезодерма*. При гаструляции клетки, которые в будущем образуют энтодерму и мезодерму, попадают внутрь зародыша, в то время как клетки, из которых возникнет эктодерма, распространяются по его поверхности.

Способы гаструляции в животном царстве необычайно разнообразны. Отчасти они зависят от типа бластулы, который в свою очередь определяется количеством и распределением желтка в яйце. Несмотря на разнообразие механизмов гаструляции, она осуществляется благодаря сочетанию нескольких основных типов движений (рис. 114).

Иммиграция – эволюционно наиболее древний тип гаструляции, заключающийся в выселении части клеток из бластодермы в бластоцель. Такой способ свойственен бластулам с более или менее выраженным бластоцелем – *целобластулам* (рис. 114, в). Различают *униполярную* (рис. 114, л) и *мультиполярную* (рис. 114, к) иммиграцию. В результате клетки, оказавшиеся внутри, образуют энтодерму, а оставшиеся снаружи – эктодерму.

Инвагинация – впячивание целого участка бластодермы (как правило, вегетативного) внутрь бластоцеля (рис. 114, м). Так же, как и иммиграция, инвагинация характерна для целобластул (рис. 114, в). Клетки инвагинировавшего пласта формируют энтодерму,

наружные клетки входят в состав эктодермы. Новая полость, образующаяся внутри зародыша при впячивании стенки бластулы, называется *гастроцелем*, а отверстие, соединяющее ее с внешней средой, – *бластопором*. Полость гастроцеля соответствует полости *первичной кишки*, а бластопор – *первичному рту*. У первичноротых животных (все беспозвоночные эволюционно ниже иглокожих) при дальнейшем развитии рот действительно образуется в этом месте; у вторичноротых животных (иглокожие и все хордовые) рот прорывается на противоположном конце зародыша, а бластопор либо зарастает, либо превращается в анальное отверстие.

Эпиболия – обрастание одних бластомеров другими. Эпиболия характерна для бластул со слабо выраженным бластоцелем (рис. 114, г, д, е). Ввиду невозможности инвагинации и иммиграции – из-за малых размеров бластоцеля или инертности перегруженных желтком вегетативных бластомеров – гаструляция в этом случае осуществляется за счет смещения клеточного материала анимального полюса и боковых стенок бластулы в направлении вегетативного полюса. Таким образом, анимальные бластомеры наползают на вегетативные и как бы обрастают их. Заключенные внутрь гаструлы вегетативные бластомеры образуют энтодерму, а размножившиеся анимальные бластомеры – эктодерму (рис. 114, н).

Деламинация – расщепление бластодермы на отдельные клеточные слои. Выделяют *клеточную* и *морульную* деламинацию. В первом случае клетки, образующие однослойную стенку бластулы (рис. 114, б), делятся поперек, в результате чего образуется два независимых слоя клеток – наружный (эктодерма) и внутренний (энтодерма) (рис. 114, и). Во втором случае бластула изначально представляет собой *морулу* – комок клеток без бластоцеля (рис. 114, а), который в последствии расслаивается с образованием внешней стенки (за счет эпителизации наружных клеток) и внутренней клеточной массы (рис. 114, з).

Изгибание – способ гаструляции, свойственный бластулам типа *плакулы*, представляющей собой уплощенную двухслойную пластинку (рис. 114, ж). Нижний слой пластинки в ходе гаструляции оказывается внутри гаструлы (энтодерма), а верхний слой – снаружи (эктодерма) (рис. 114, о).

Таким образом, на первых этапах гаструляции образуется двухслойный зародыш, состоящий из двух зародышевых листков. Наружный листок – эктодерма – дает начало кожным эпителиям и нервной системе; из внутреннего листка – энтодермы – развивается эпителиальная поверхность пищеварительного тракта и дыхательной системы.

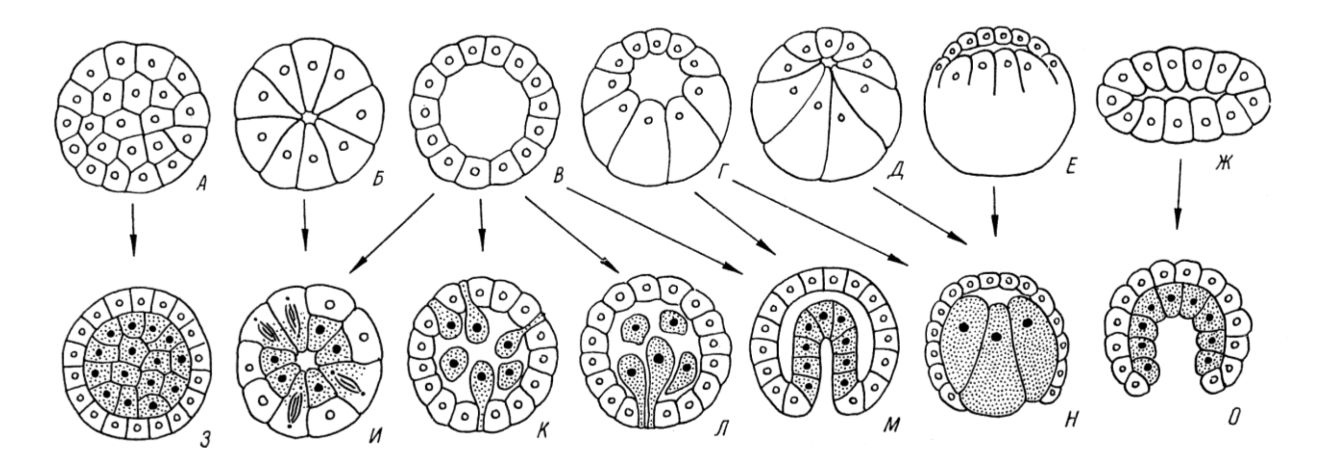


Рис. 114. Типы бластул и связанные с ними типы гаструляций (по: Иванова-Казас, 1995). А – равномерная морула, Б – равномерная стерробластула, В – равномерная целобластула, Г – неравномерная целобластула, Д – неравномерная стерробластула, Е – дискобластула, Ж – плакула, З – морулярная деламинация, И – клеточная деламинация, К – мультиполярная иммиграция, Л – униполярная иммиграция, М – инвагинация, Н – эпиболия, О – изгибание плакулы. Энтодерма отмечена пунктиром.

Следующим шагом гаструляции является формирование третьего, промежуточного зародышевого листка – *мезодермы*, которая залегает между экто- и энтодермой. В разных группах животных мезодерма образуется разными способами: путем впячивания части энтодермы в первичную полость тела (энтероцельный способ закладки) (рис. 115, а), либо путем деления клеток энтодермального клеточного пласта в продольной плоскости (деламинационный способ закладки) (рис. 115, б), либо путем миграции части клеток энтодермы в первичную полость с образованием там клеточного пласта (пролиферационный способ закладки) (рис. 115, в). В некоторых случаях мезодерма развивается из особых клеток-*телобластов*, закладывающихся в эмбриогенезе самостоятельно и независимо от энтодермы (телобластический способ закладки). Мезодерма служит зачатком всех разновидностей соединительной ткани, скелетной поперечно-полосатой мускулатуры, а также гладкой мускулатуры, образующей мышечную выстилку многих органов.

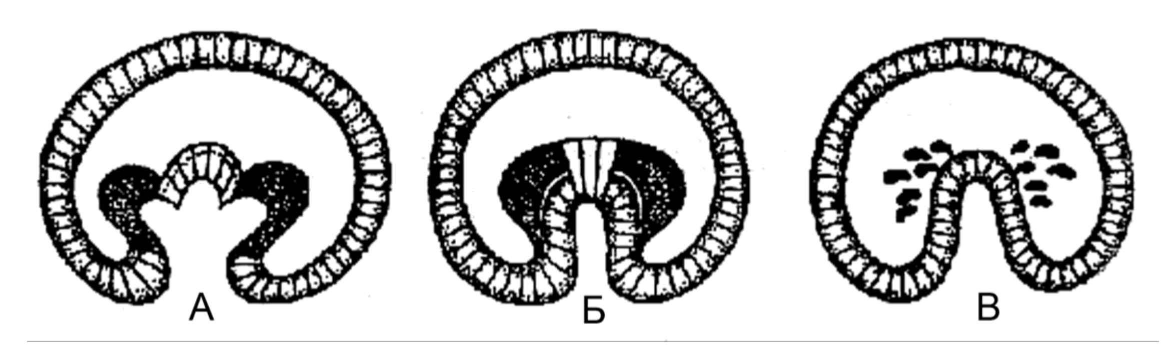


Рис. 115. Некоторые способы закладки мезодермы (по: Токин, 1987). А – энтероцельный, Б – деламинационный, В – пролиферационный. Затемнённые участки соответствуют мезодерме.

9.5. Нейруляция и дифференцировка мезодермы

После того, как в ходе гаструляции сформировались зародышевые листки, наступает стадия первичного органогенеза – начинается закладка *провизорных* (первичных, предварительных) органов зародыша, на основе которых в последствии разовьются все органы и системы органов организма в их окончательном варианте (вторичный органогенез). Первичный органогенез начинается *нейруляцией* – процессом формирования *нервной трубки* – зачатка центральной нервной системы и органов чувств. Параллельно с нейруляцией закладываются важнейшие осевые структуры зародыша, характерные для всех хордовых животных – *хорда* и *сомиты*. Зародыш на стадии нейруляции называется *нейрулой*.

Нервная трубка развивается из дорсальной (спинной) половины эктодермы – *нейроэктодермы* (остальная часть эктодермы – *кожная эктодерма* – примет участие в формировании кожного эпителия, или *эпидермиса*). Нейроэктодерма уплощается, формируя *нервную пластинку* с расширением на головном конце (рис. 116). Края нервной пластинки приподнимаются, образуя *нервные валики*, углубление между которыми называется *нервным желобком* (рис. 116, а). В дальнейшем нервные валики замыкаются, образуя полую нервную трубку (рис. 116, б). Полость нервной трубки – *нейроцель* – сообщается с окружающей средой с помощью двух отверстий – *переднего* и *заднего нейропоров*. Сомкнувшиеся края нервной пластинки формируют особую структуру – *нервный гребень*, соединяющий нервную трубку и оставшуюся снаружи кожную эктодерму. Из материала нервного гребня образуется периферическая нервная система, клетки мозгового вещества надпочечников, пигментные клетки кожи – *меланоциты*, а также скелетные и соединительнотканные компоненты головы.

Одновременно с процессом нейруляции из самого дорсального участка мезодермы (*хордомезодермы*) формируется *хорда* – плотный тяж, залегающий под нервной трубкой (рис. 117). У позвоночных животных хорда в последствии замещается на хрящевой, а затем и костный позвоночник. Кроме функции образования осевого скелета, хордомезодерма также

выполняет регуляторную функцию, побуждая расположенную над ней нейроэктодерму к процессам нейруляции. Действие, посредством которого один зачаток инициирует (индуцирует) процессы развития другого зачатка, называется *первичной эмбриональной индукцией*. Влияние, оказываемое хордомезодермой на соседнюю эктодерму, является примером такой индукции.

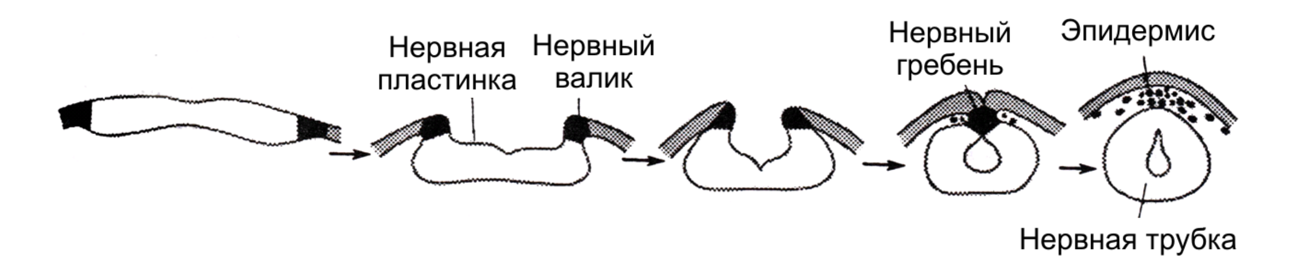


Рис. 116. Схема образования нервной трубки у амфибий и амниот. Эктодермальные клетки представлены либо как предшественники нервного гребня (обозначен черным цветом) и нервной трубки (обозначена белым), либо как предшественники эпидермиса (обозначен серым цветом). Сомкнувшись по будущей среднеспинной линии, эктодермальные складки образуют наружный слой – покровный эпителий – и лежащую внутри нервную трубку, которые соединяются посредством клеток нервного гребня (по: Гилберт, 1993).

Клетки дорсальной мезодермы, не вошедшие в состав хорды, принимают участие в формировании парных утолщенных тяжей, залегающих по бокам от хорды. Затем эти тяжи сегментируются по длине тела зародыша, образуя треугольные блоки – *сомиты* (рис. 117 и 118). В последствии сомиты подразделяются на три зачатка – *дерматом*, *миотом* и *склеротом*. Дерматом дает начало дерме кожи; миотом участвует в образовании скелетной мускулатуры; склеротом диссоциирует на отдельные клетки, образуя первичную соединительную ткань *мезенхиму* (мезенхимальные клетки также образуются и из других частей мезодермы) (рис. 118). Мезенхима склеротомного происхождения в дальнейшем дифференцируется в хрящевые и костные клетки, мигрирующие в область хорды и формирующие вокруг нее настоящий позвоночник. Сама хорда к тому времени, как будут сформированы позвонки, дегенерирует.

Мезодерма, расположенная более *вентрально* (ближе к брюшной стороне) от сомитов, образует парные клеточные пласты, идущие параллельно поверхности тела, – *боковые пластинки*. Боковые пластинки расщепляются на два листка – наружный *париетальный* листок, подстилающий кожную эктодерму, и внутренний *висцеральный* листок, обращенный к энтодерме и подстилающий, таким образом, кишку (рис. 118). Париетальная мезодерма в дальнейшем дифференцируется в структуры конечностей; висцеральная мезодерма формирует гладкомышечную выстилку пищеварительного тракта, а также участвует в образовании некоторых внутренних органов – сердца, кровеносных сосудов, гонад. Щель между париетальным и висцеральным листками боковых пластинок расширяется и образует вторичную полость тела – *целом*. У амниот (рептилии, птицы, млекопитающие) в ходе развития образуются *туловищные*, или *боковые складки*, отделяющие тело зародыша от внезародышевых частей. Внезародышевая эктодерма и подстилающая ее внезародышевая париетальная мезодерма приподнимаются и формируют *амниотические складки*, которые покрывают зародыш и смыкаются с образованием *амниона* – защитного пузыря, заполненного *амниотической жидкостью* (рис. 118).

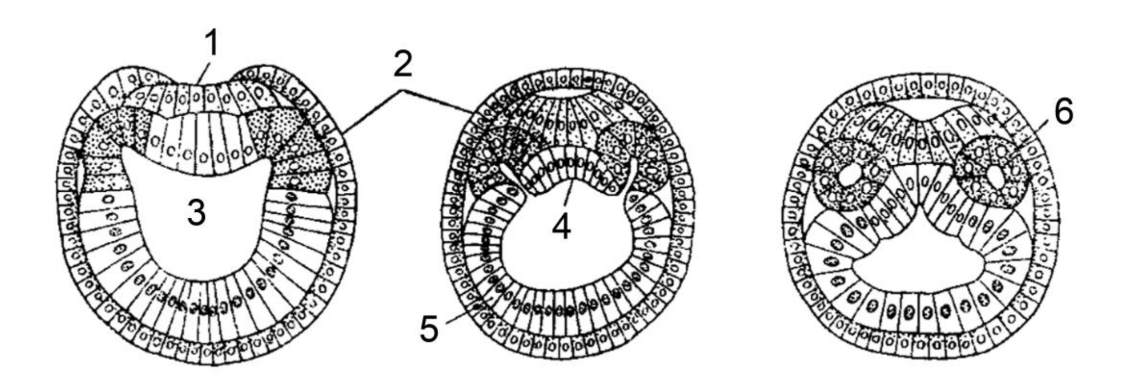


Рис. 117. Формирование осевых органов у ланцетника. Поперечные срезы зародыша (по: Токин, 1987). 1 – нервная пластинка, 2 – эпидермис, 3 – первичная кишка, 4 – хорда, 5 – энтодерма, 6 – сомиты.

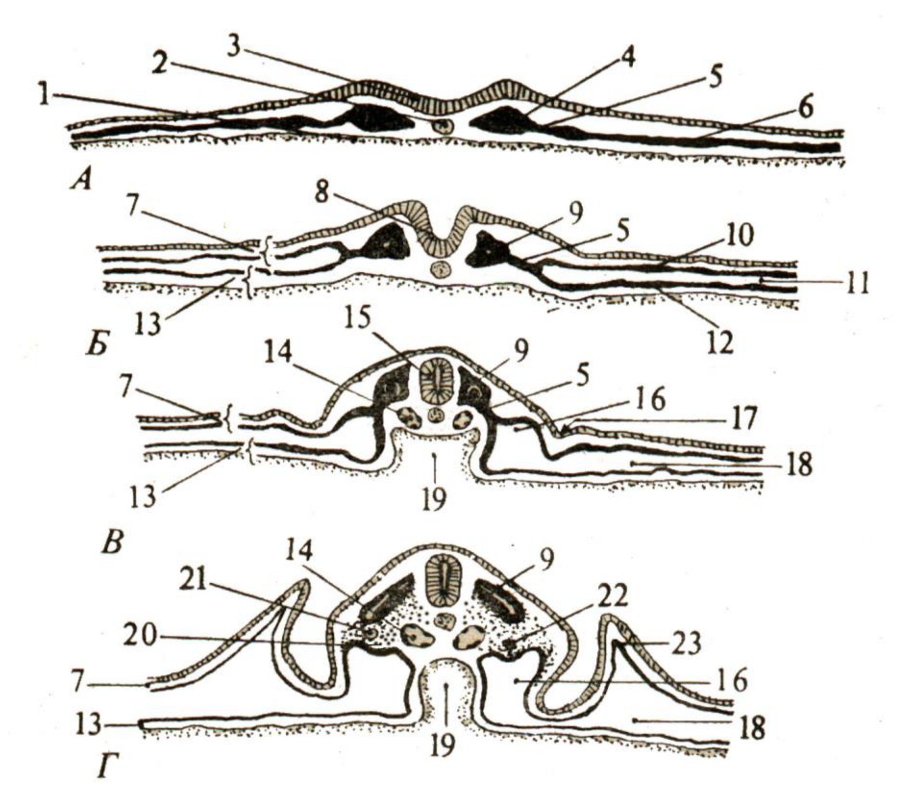


Рис. 118. Схематическое изображение поперечных срезов зародыша цыпленка на разных стадиях развития (по: Карлсон, 1983). А, Б – ранняя нейрула, В – поздняя нейрула, Г – зародыш на стадии образования амниотических складок. 1 – эндодерма; 2 – хорда; 3 – нервная пластинка; 4 – дорсальная мезодерма; 5 – промежуточная мезодерма; 6 – латеральная мезодерма; 7 – соматоплевра; 8 – нервная складка; 9 – сомит; 10 – соматическая мезодерма; 11 – целом; 12 – сплахническая мезодерма; 13 – спланхноплевра; 14 – дорсальная аорта; 15 – нервная трубка; 16 – внутризародышевый целом; 17 – боковая складка тела; 18 – внезародышевый целом; 19 – первичная кишка; 20 – мезенхима; 21 – задняя кардинальная вена; 22 – мезонефрический проток и каналец из промежуточной мезодермы; 23 – боковая складка амниона.

9.6. Регуляция развития

В современной биологии развития наиболее актуальным остается вопрос: каким же образом из одной единственной клетки, которую представляет собой зародыш в начале пути, возникает многоклеточный организм с множеством специализированных клеток, связанных друг с другом сложнейшими взаимодействиями? Сегодня он решается объединенными усилиями таких наук, как биохимия, клеточная биология, молекулярная биология, молекулярная генетика и др.

Как уже обсуждалось ранее, в основе процессов онтогенеза лежит скоординированное во времени и пространстве сочетание репродукции и дифференцировки клеток.

Дифференцировка клеток как механизм специализации частей зародыша достигается за счет дифференциальной экспрессии (активации) генов. Экспрессия генов, в свою очередь, регулируется целым рядом факторов – как внутренних, так и внешних. Рассмотрим их.

На первом этапе развития определяется *генеральный план строения зародыша*. Основным фактором на этом этапе является *исходная неравномерность распределения в цитоплазме яйцеклетки специальных регуляторных белков и мРНК – морфогенетических детерминант, или морфогенов* (см. выше). Эта неравномерность может быть обусловлена разными причинами. Так, направление главных осей яйца (кранио-каудальной, дорзо-вентральной, сагиттальной) может определяться местами его контакта с половыми путями самки, а также с клетками, питающими растущий ооцит, или полярными тельцами. Кроме того, оси могут определяться в момент оплодотворения в зависимости от места вхождения сперматозоида: например, у лягушки дорсальные (спинные) структуры развиваются на стороне, противоположной месту вхождения сперматозоида. И, наконец, закладка осей зародыша может находиться под влиянием факторов внешней среды: к примеру, плоскость первого деления дробления зиготы бурой водоросли пельвеции перпендикулярна направлению падения на неё лучей света, так что из верхней, более освещённой клетки в последствии формируется таллом, а из нижней – ризоиды.

На втором этапе происходит *детерминация бластомеров* – определение их дальнейшей судьбы. Детерминированной считается клетка, в которой уже начинают работать гены, свойственные данному клеточному типу, но внешне признаки специализации ещё не проявляются. В зависимости от степени детерминации бластомеров выделяют два типа развития – *мозаичный (детерминационный)* и *регуляционный*. При *мозаичном типе развития* судьба бластомеров полностью зависит от того, как во время дробления распределились морфогенетические детерминанты в их цитоплазме. Таким образом, бластомеры в бластуле представляют собой мозаику детерминированных клеток. В этом случае можно разделить скопление дробящихся бластомеров на две части, и из каждой образуется лишь определенная половина зародыша. Примером полной детерминированности развития является развитие нематоды *Caenorhabditis elegans*. Составлена полная карта клеточных линий этого животного, состоящего всего из 945 клеток (рис. 119). При *регуляционном типе развития*, помимо материнских факторов ооплазмы, имеют значение и межбластомерные взаимодействия, обеспечивающие возможность эмбриональных регуляций. Если группу бластомеров зародыша с регуляционным типом развития разделить на две части, то из них сформируется два полноценных зародыша меньшего размера. Таким образом, бластомеры способны «чувствовать» своё положение среди других клеток, определять их количество и корректировать свой путь развития.

На третьем этапе бластомеры начинают сами синтезировать морфогены (за счет экспрессии определенных генов), которые особым образом распределяются вдоль осей зародыша. Морфогены синтезируются на одном из полюсов зародыша и диффундируют в другой полюс, создавая, таким образом, определенные *градиенты морфогенетических полей* (рис. 120). Несколько морфогенов создают в каждом участке тела зародыша своё, уникальное для этого участка, соотношение концентраций, что приводит к включению или выключению необходимого набора генов и, соответственно, синтезу очередной партии регуляторных белков – вторичных морфогенов. Таким образом, общее морфогенетическое поле усложняется, дифференцируется на множество локальных полей, определяющих местоположение и направление развития клеток того или иного органа, ткани, части тела.

Кроме градиентов вещества внутри зародыша на активность генов и судьбу клеток влияют *межклеточные контактные взаимодействия*, например, при дроблении зиготы в случае регуляционного типа развития или при формировании нервной трубки под индукционным воздействием хордомезодермы. Важны также *контакты клетка – субстрат*, поскольку внеклеточное вещество тоже содержит в себе элементы, направляющие ход развития. И межклеточные взаимодействия, и взаимодействия клетка – субстрат могут быть как химическими, так и механическими. В первом случае определённые молекулы,

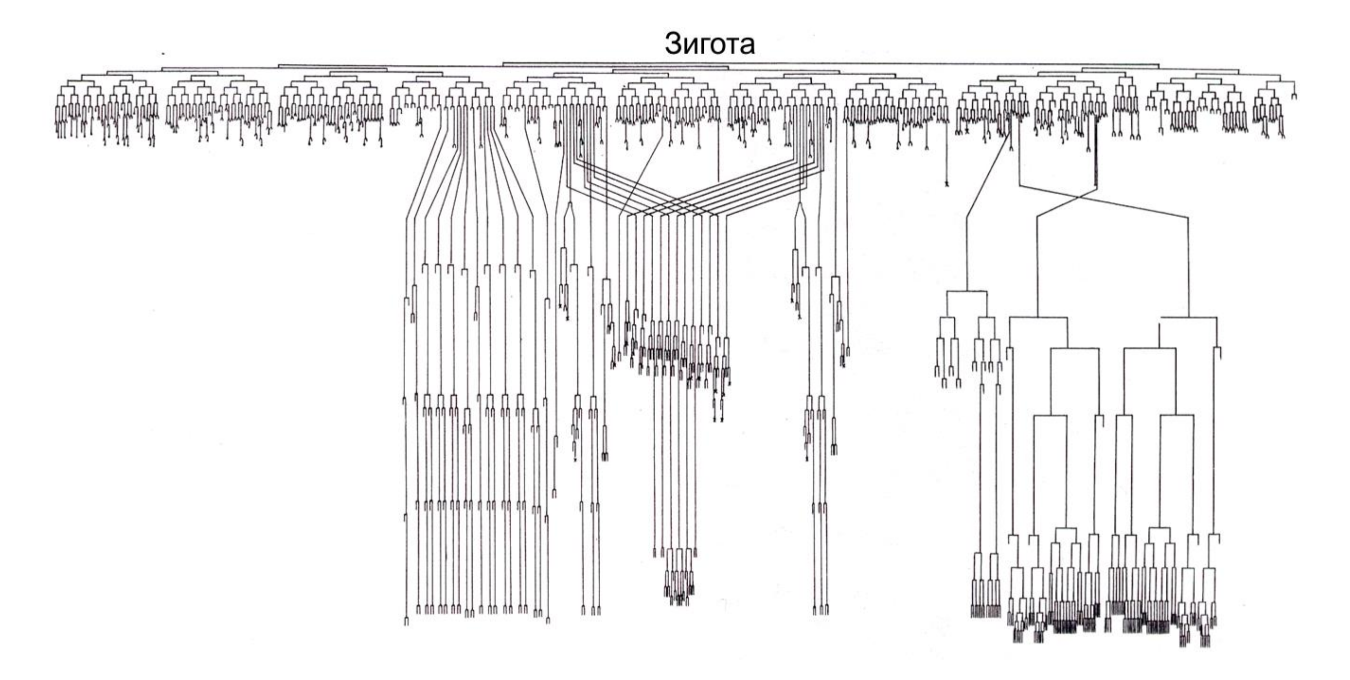


Рис. 119. Полная карта клеточных линий для *Caenorhabditis elegans* (по: Геринг, 1998). Каждая вертикальная линия представляет собой одну клетку, каждая горизонтальная – одно клеточное деление.

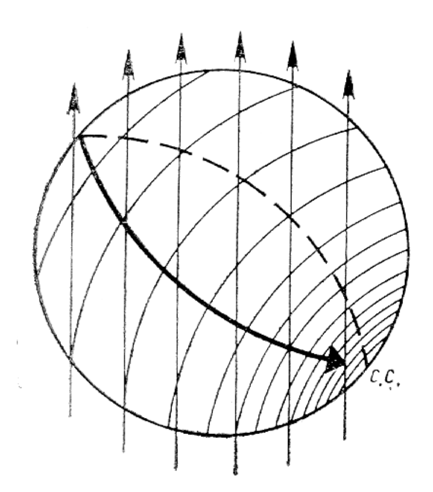


Рис. 120. Схема морфогенетического поля, образованного градиентом концентрации двух морфогенов (по: Токин, 1987).

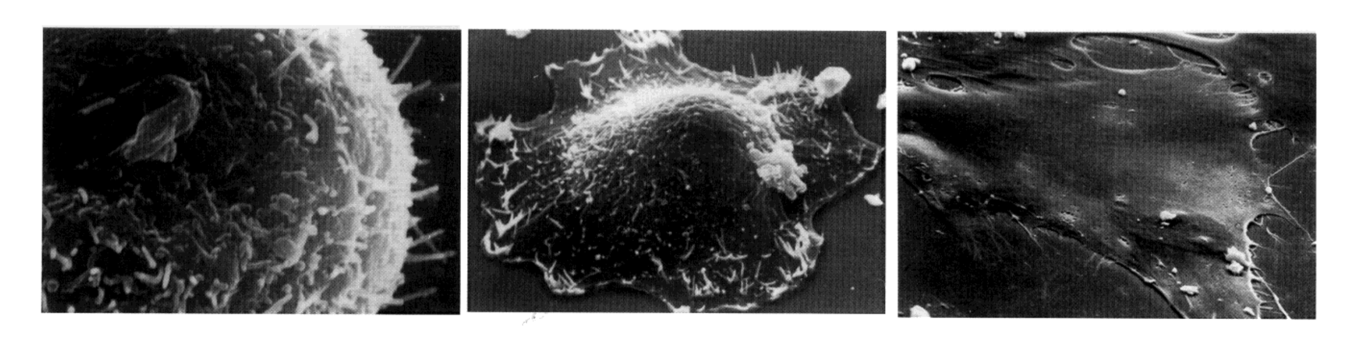


Рис. 121. Изменение формы клетки при изменении окружения на примере эпителиальной клетки линзы глаза, выращиваемой в культуре (по: Iwig et al., 1995). При высаживании на стекло клетка имеет округлую форму со множеством микровыростов мембраны. Через 20 минут клетка начинает распластываться по стеклу, выпуская ламеллоподии. Через 24 часа клетка полностью распласталась по субстрату, на клеточных границах видны ламеллоподии и филоподии. Распластанная таким образом клетка делиться уже не может, перед делением клетка должна округлиться. Сканирующий электронный микроскоп.

вырабатываемые соседними клетками или входящие в состав субстрата, служат морфогенами, они связываются со специфическими клеточными рецепторами и изменяют поведение клетки. Во втором случае на судьбу клетки (или целого клеточного пласта) влияют силы натяжения, возникающие в результате распластывания на субстрате (рис. 121). К примеру, механическое натяжение на твёрдом субстрате необходимо для окончательной дифференцировки мышечных клеток.

Итак, регуляция процессов роста и развития организма происходит с помощью морфогенетических факторов, действующих на клетки, а также зависит от свойств самих клеток, по-разному реагирующих на одни и те же стимулы в зависимости от их детерминации. Эти внешние и внутренние факторы определяют скорость и направление миграции клеток, скорость их деления, выработку ими внеклеточного вещества того или иного типа, эпителизацию (создание единого клеточного пласта) или, напротив, распадение клеточного пласта на отдельные свободные клетки, выгибание целых клеточных пластов, сворачивание пластов в трубки, распластывание по субстрату или образование клеточных агрегатов и другие элементарные формообразовательные процессы (рис. 122). Под воздействием этих факторов судьба клеток в развивающемся многоклеточном организме может реализовываться в трёх направлениях:

- ***дифференцировка*** – клетка специализируется на выполнении какой-то одной функции в организме, при этом она, как правило, теряет способность к размножению;
- ***деление*** – клетка остается недифференцированной, стволовой, камбиальной, и способна делиться, порождая дочерние клетки, часть которых станет такими же стволовыми клетками, а часть вступит на путь дифференцировки;
- ***апоптоз*** – программируемая смерть клетки. В процессе развития организма погибает довольно большое число клеток, и смерть их предопределена программой развития организма, это естественный процесс. К примеру, у позвоночных животных промежутки между пальцами образуются благодаря отмиранию четырёх пластов клеток на конце формирующейся конечности; в процессе развития нервной системы путём апоптоза элиминируется до 90% всех нарождающихся нейронов.

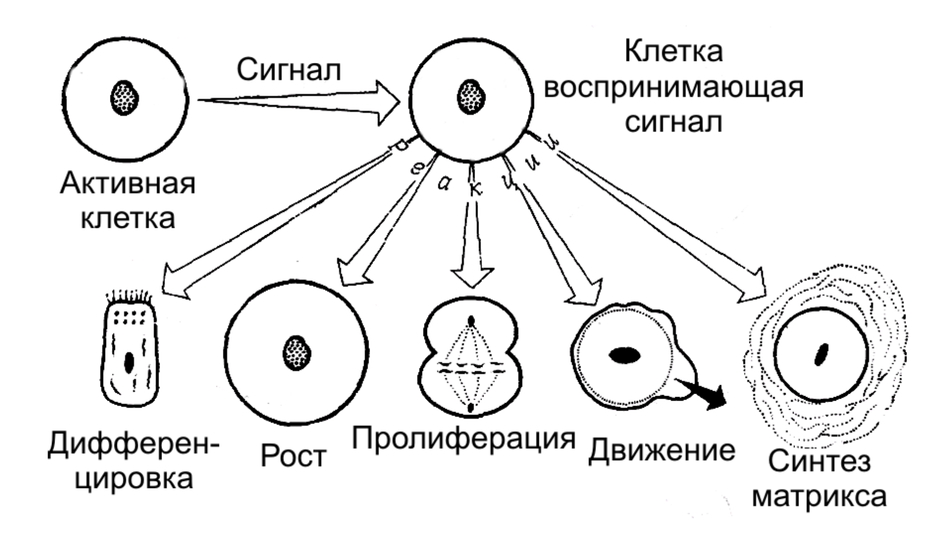


Рис. 122. Некоторые возможные типы реакций клетки на сигналы, полученные при взаимодействии с другими клетками.

Тема 10. Тканевая организация животных

10.1. Понятие тканей и их классификация

У подавляющего большинства современных многоклеточных животных клетки и межклеточные элементы объединены в морфофункциональные комплексы – *ткани*. Ткань –

это система клеток и межклеточных элементов, имеющих общую структурно-биохимическую организацию и выполняющих общую функцию в многоклеточном организме. Появление тканей в эволюции организмов стало возможным благодаря специализации клеток на основе дифференциальной экспрессии генов и, как следствие, четкому «разделению труда» между разными клеточными типами.

Выделяют четыре типа тканей:

- *эпителиальные* – выполняют пограничную, или барьерную, функцию, т.е. отделяют внутреннюю среду организма от внешней среды. У эпителиальных тканей есть и другие функции: всасывающая, железистая, выделительная, осморегуляторная;
- *ткани внутренней среды* (соединительные ткани и кровь) – выполняют опорную, защитную и трофическую функции, обеспечивая, таким образом, постоянство внутренней среды организма;
- *мышечные* – благодаря сократимости клеток обеспечивают моторику ряда органов (сердце, кишечник и др.), а также способность всего организма к движению;
- *нервная* – обеспечивает раздражимость и реактивность организма, включая сложные поведенческие акты.

10.2. Эпителиальные ткани

Эпителиальные ткани в силу своего пограничного положения имеют следующие общие черты:

1) Клетки прочно контактируют друг с другом и образуют сплошной пласт. Межклеточного вещества очень мало.
2) Клетки располагаются на *базальной мембране* – тонкой гибкой подложке на основе белка коллагена. Базальная мембрана синтезируется частично самими эпителиальными клетками, но ее основу, в том числе коллагеновые волокна, продуцируют клетки соединительной ткани – *фибробласты*.
3) Базальная мембрана подстилается *рыхлой соединительной тканью*, служащей для эпителиального пласта механической основой, а также источником питания – за счет изобилия кровеносных капилляров. Сам эпителий капилляров не содержит.
4) Клетки эпителия полярны – имеют *базальный полюс*, обращенный к внутренней среде организма (к базальной мембране и подстилающей соединительной ткани), и *апикальный полюс*, обращенный к пограничной среде. Полярность может утрачиваться при погружении эпителиев в соединительную ткань (печень, эндокринные железы).
5) Эпителиальные ткани, как правило, хорошо регенерируют, так как их клетки постоянно подвергаются повреждающему воздействию внешней среды.

Морфологически эпителии подразделяются на *однослойные* и *многослойн*ые. Функционально эпителии можно разделить на три основные группы: *кожные*, *кишечные* и *секреторные*. Отдельную специализированную группу составляют *осморегуляторные* и *выделительные* эпителии, весьма разнообразные в разных типах животных.

10.2.1. Кожные эпителии

Кожные эпителии происходят из эктодермы. Они располагаются на поверхности кожных покровов и непосредственно контактируют с внешней средой. На ранних этапах эволюции барьерная роль кожного эпителия сочеталась с поглощением питательных веществ и выделением продуктов метаболизма, а также локомоторной функцией и восприятием раздражений из внешней среды. Позднее для осуществления этих функций стали появляться специальные ткани, а кожный эпителий начал специализироваться на создании совершенного барьера, изолирующего организм от внешней среды.

Среди кожных эпителиев можно выделить три основные разновидности: а) *однослойные многорядные* эпителии (*слизистые* или *ресничные*); б) *однослойные кутикулярные* эпителии; в) *многослойные неороговевающие* и *ороговевающие* эпителии. Такая классификация отражает различные варианты усложнения кожных эпителиев в ходе

эволюции. У беспозвоночных и низших хордовых кожные эпителии однослойные – это означает, что все клетки имеют связь с базальной мембраной. В их составе имеются камбиальные (стволовые) и дифференцированные клетки. Разнородный клеточный состав обуславливает эффект многорядности эпителия – за счет расположения ядер разных клеток на разных уровнях. Среди дифференцированных клеток могут встречаться *ресничные клетки*, а также *железистые клетки*, вырабатывающие слизь, которая создает на поверхности кожного эпителия дополнительный барьер (рис. 123). Барьерная функция однослойного эпителия может быть усилена не только слоем слизи (многие беспозвоночные, ланцетник), но и *кутикулярной пластинкой*, которая в совокупности с клетками эпителиального пласта образует особую структуру – *кутикулу* (круглые и кольчатые черви, членистоногие, оболочники). *Кутикулярная пластинка* развивается за счет гипертрофии элементов надмембранного комплекса и образована белковыми (коллагеновыми) или полисахаридными (хитиновыми, целлюлозными) волокнами и аморфным веществом (полисахаридным матриксом) (рис. 124).

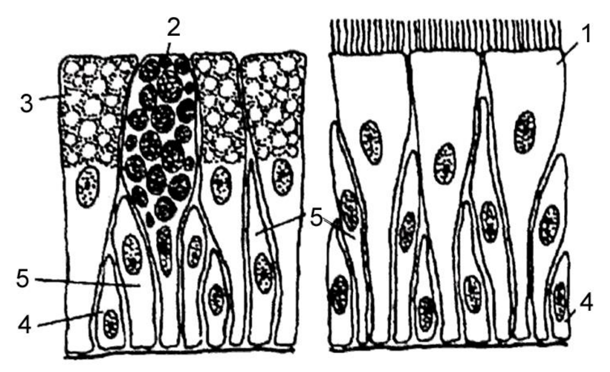


Рис. 123. Однослойный многорядный железистый (слева) и ресничный (справа) эпителии моллюсков (по: Заварзин, 2000). Все клетки лежат на одной базальной мембране, но ядра клеток расположены на разных уровнях, так что клетки сидят на мембране в несколько рядов. 1—3 – дифференцированные клетки (1 – ресничные, 2 – железистые, 3 – защитные), 4 – базальные, 5 – малодифференцированные клетки.

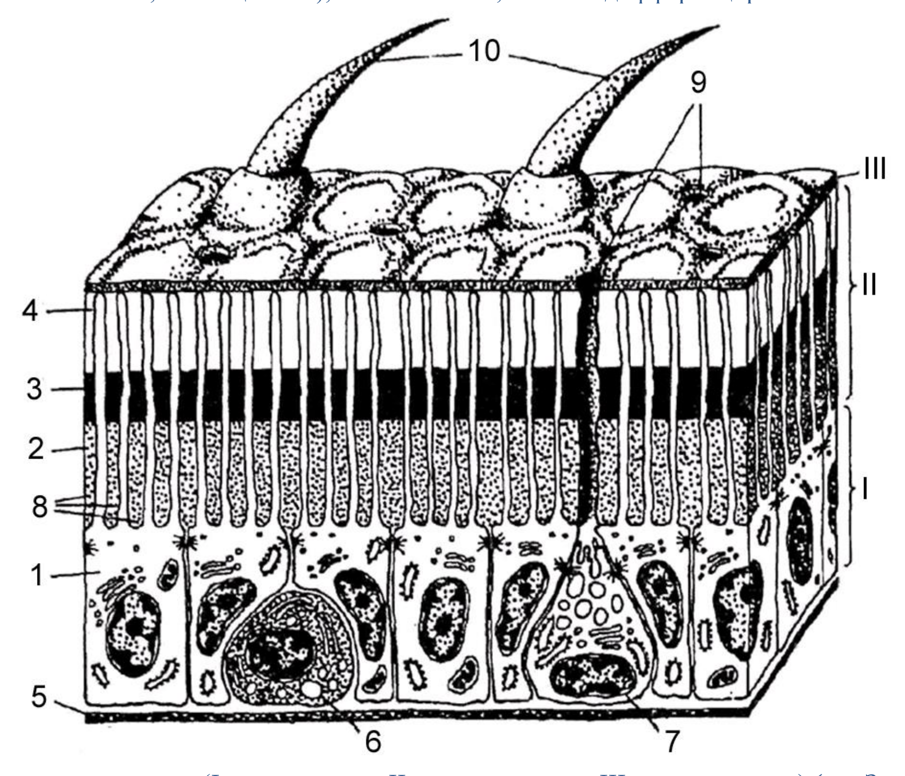


Рис. 124. Кутикула насекомого (I – гиподерма, II – прокутикула, III – эпикутикула) (по: Заварзин, 2000); 1 – эпителиальные клетки, 2 – эндокутикула, 3 – экзокутикула I, 4 – экзокутикула II, 5 – базальная мембрана, 6 – эноцит, 7 – одноклеточная гиподермальная железа, 8 – цитоплазматические отростки, 9 – проток гиподермальной железы, 10 – чувствительные волоски.

У позвоночных животных усиление барьерной функции достигается за счет многослойности кожных эпителиев (рис. 125). С переходом животных к наземному существованию эпителии приобретают свойство *ороговевания* – за счет синтеза и накопления в клетках белка кератина (основной белок промежуточных филаментов). У миног и рыб эпителий *неороговевающий*, у земноводных – *слабоороговевающий*, у рептилий, птиц и млекопитающих – *сильноороговевающий*. Чешуя, перья, волосы, когти, рога, копыта – все это производные сильноороговевающего эпителия. Клеточный состав многослойных эпителиев различается в разных его слоях. На базальной мембране располагаются камбиальные (в том числе стволовые) клетки. По мере их деления более старые слои клеток отодвигаются всё ближе к поверхности, одновременно дифференцируясь и накапливая кератины (если эпителий ороговевающий). Наконец, клетки отмирают, превращаясь в заполненные кератином роговые чешуйки, которые через некоторое время слущиваются с поверхности кожи.

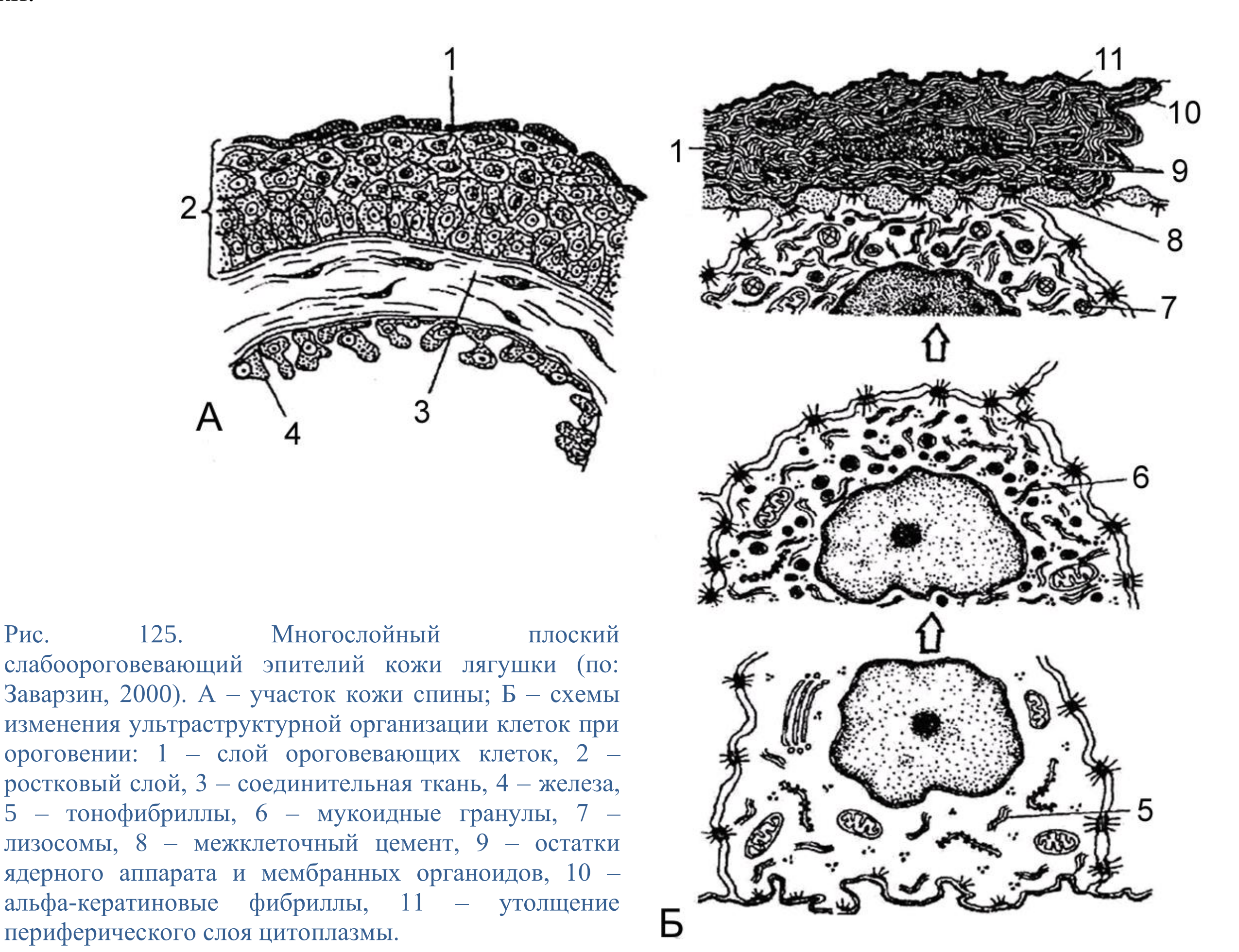


Рис. 125. Многослойный плоский слабоороговевающий эпителий кожи лягушки (по: Заварзин, 2000). А – участок кожи спины; Б – схемы изменения ультраструктурной организации клеток при ороговении: 1 – слой ороговевающих клеток, 2 – ростковый слой, 3 – соединительная ткань, 4 – железа, 5 – тонофибриллы, 6 – мукоидные гранулы, 7 – лизосомы, 8 – межклеточный цемент, 9 – остатки ядерного аппарата и мембранных органоидов, 10 – альфа-кератиновые фибриллы, 11 – утолщение периферического слоя цитоплазмы.

10.2.2. Кишечные эпителии

Кишечные эпителии имеют энтодермальное происхождение; они выстилают органы пищеварительного тракта, образуя вместе с подлежащей соединительной тканью *слизистую оболочку*. У большинства животных их функция сводится к выработке пищеварительных ферментов и слизи, защищающей клетки эпителия от самопереваривания, а также к всасыванию пищевых мономеров и их транспортировке через базальную мембрану в кровеносные сосуды соединительной ткани. Поэтому кишечные эпителии всегда однослойные.

В составе кишечных эпителиев имеются камбиальные (или стволовые) и дифференцированные клетки. Камбиальные клетки, в отличие от дифференцированных, сохраняют способность к делению, обновляют клеточные популяции и обеспечивают ткань

новыми клетками. Дифференцированные клетки, как правило, живут очень недолго. У млекопитающих средний срок жизни эпителиальных клеток тонкой кишки составляет около двух суток. Состав дифференцированных клеток различается в разных органах пищеварительного тракта. Так, в эпителии желудка млекопитающих основные клетки – *секреторные* и *слизистые*. Секреторные клетки вырабатывают желудочный сок – смесь пищеварительных ферментов и соляной кислоты. Слизистые клетки вырабатывают углеводную слизь, защищающую эпителий от химического воздействия соляной кислоты и ферментов и облегчающую механическое прохождение пищи по пищеварительному тракту. Эпителий кишки в основном представлен *всасывающими* клетками. Они имеют хорошо развитый поверхностный аппарат из *микроворсинок*. Микроворсинки увеличивают общую площадь контакта поверхности всасывающих клеток с перевариваемым субстратом; эту же функцию выполняют складки самой слизистой оболочки кишечника – *ворсинки* (рис. 126). Помимо всасывающих клеток, в слизистой кишечника имеется много секреторных слизистых клеток, называемых также *бокаловидными* клетками (рис. 127).

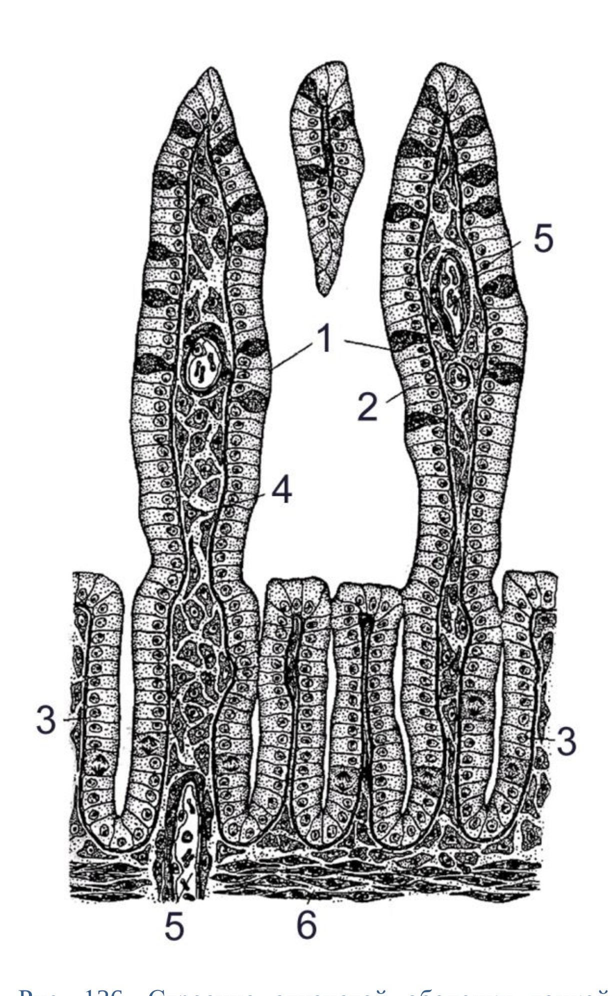


Рис. 126. Строение слизистой оболочки тонкой кишки млекопитающего (по: Заварзин, 2000). 1 – ворсинки; 2 – эпителий; 3 – крипта; 4 – соединительная ткань; 5 – кровеносный сосуд; 6 – мышечный слой слизистой оболочки.

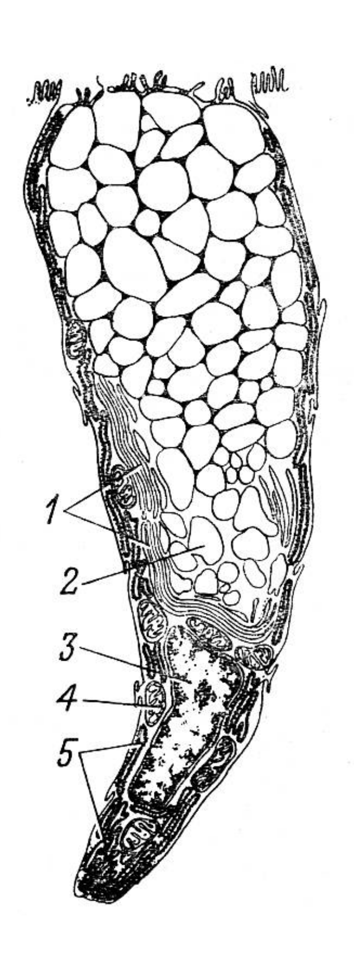


Рис. 127. Бокаловидная слизистая клетка кишечного эпителия млекопитающего, схема (по: Заварзин, 2000): 1 – аппарат Гольджи; 2 – секреторные вакуоли; 3 – ядро; 4 – митохондрии; 5 – ШЭР.

У взрослых млекопитающих в основном выражено *полостное* и *пристеночное* (*примембранное*) *пищеварение*. При полостном пищеварении секреторные клетки выделяют секрет в полость пищеварительной системы, где и происходит расщепление пищи до олигомеров. Далее олигомеры соприкасаются с ферментами, встроенными в гликокаликс микроворсинок всасывающих клеток; в гликокаликсе происходит пристеночное пищеварение, в результате чего олигомеры расщепляются до мономеров, которые

всасываются клетками и переносятся в кровь. У низших животных и у новорождённых детей есть также *внутриклеточное пищеварение*, при котором клетки кишечника поглощают крупные частицы пищи путем фагоцитоза и переваривают их внутри себя с помощью лизосом. У новорождённых таким образом частично переваривается молоко.

10.2.3. Секреторные (железистые) эпителии

Секреторные, или железистые, эпителии выстилают разнообразные железы. *Железы внешней секреции*, или *экзокринные железы*, как правило, являются производными кишечных и кожных эпителиев, они выделяют секрет во внешнюю среду через выводной проток (полость пищеварительного тракта по отношению к организму тоже является внешней средой). *Железы внутренней секреции*, или *эндокринные железы*, продуцируют *гормоны* и выводят их в кровь или тканевую жидкость. Происхождение секреторных эпителиев различно: большинство желез внутренней секреции происходят из мезодермы, а железы внешней секреции – в зависимости от принадлежности к системе органов. Так, экзокринный эпителий поджелудочной железы, являющейся частью пищеварительного тракта, имеет энтодермальное происхождение, а эпителий сальных желез кожи – эктодермальное. Секреторные эпителии почти всегда однослойные, их функция – синтез и секреция веществ, которые работают за пределами самих клеток.

Простейшие железы имеют одноклеточное строение. Пример *одноклеточной железы* представляют собой слизистые бокаловидные клетки, встроенные в эпителий слизистой кишечника (рис. 126, 127). Так как основным компонентом слизи являются мукополисахариды, в этих клетках особенно развит аппарат Гольджи (для сравнения – в клетках, секретирующих белковый секрет, соответственно, наиболее развит ШЭР (рис. 128)).

Более сложно устроены *многоклеточные железы* (рис. 128). Многоклеточные экзокринные железы состоят из секреторных клеток и клеток, выстилающих выводной проток железы. Как правило, в базальных частях клеток расположен весь синтетический аппарат, апикальные же части заполнены вакуолями с готовым к выведению секретом.

Такое полярное расположение компонентов вакуолярной системы в секреторных клетках экзокринных желез обусловлено их пограничным положением между внутренней средой организма и внешней средой. Базальные части клеток, примыкающие к базальной мембране, обращены к слою рыхлой соединительной ткани и сообщаются, таким образом, с кровеносными капиллярами, откуда получают питание в виде мономеров (аминокислот, простых сахаров и т.д.) для синтеза секрета. Готовый секрет выделяется в выводной проток железы апикальными частями клеток либо путем экзоцитоза (*мерокриновая секреция*, характерна для большинства желез), либо отщеплением самих апикальных концов (*апокриновая секреция*, характерна для потовых и молочных желез), либо за счет отделения целых клеток (*голокриновая секреция*, характерна для сальных желез).

Эндокринные железы, в отличие от экзокринных, не имеют выводных протоков. Их эпителий также окружен рыхлой соединительной тканью с многочисленными кровеносными капиллярами, в которые секрет попадает путем диффузии через базальную мембрану. Эндокринными железами у млекопитающих являются *гипофиз*, *надпочечники*, *щитовидная железа*, специальные эндокринные островки в *поджелудочной железе* (*островки Лангерганса*), *половые железы* и др. Выделяемые ими гормоны регулируют процессы развития и жизнедеятельности многоклеточного организма.

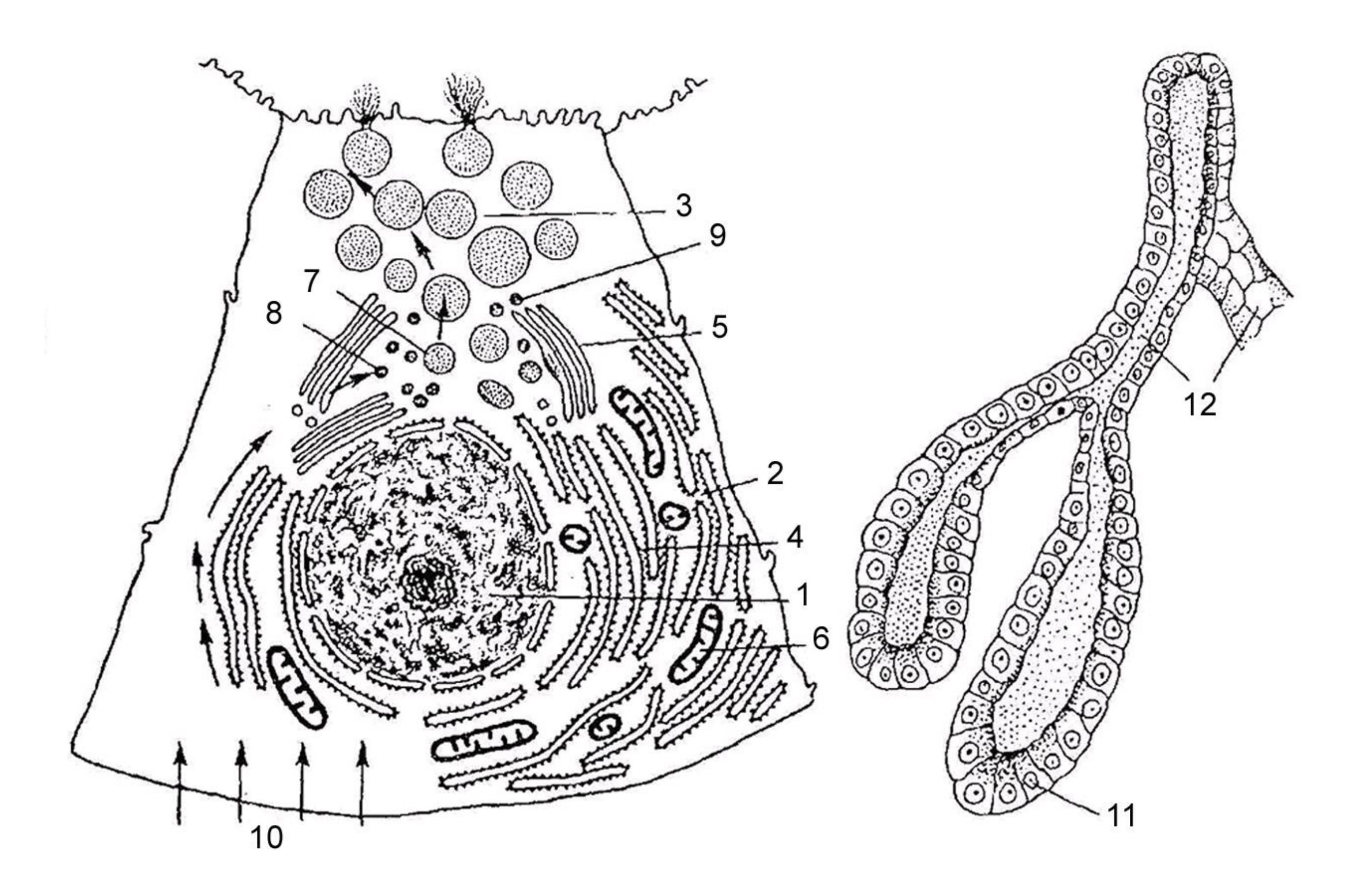


Рис. 128. Экзокриновая часть поджелудочной железы (по: Заварзин, 2000). Слева – ультраструктурная организация секреторной клетки, справа – строение участка железы: 1 – ядро, 2, 3 – зоны цитоплазмы (2 – гомогенная, 3 – зимогенная), 4 – ШЭР, 5 – аппарат Гольджи, 6 – митохондрии, 7 – конденсационные вакуоли аппарата Гольджи, 8 – мелкие транспортные пузырьки, 9 – лизосомы, 10 – поступление аминокислот, 11 – концевой отдел, 12 – выводной проток. Стрелками показано внутриклеточное перемещение секрета, синтезированного на ШЭР.

10.3. Ткани внутренней среды

Ткани внутренней среды (ТВС) – очень разнообразная группа тканей, объединенных следующими общими чертами:

1) ТВС имеют общее мезодермальное происхождение.
2) В их составе много межклеточного вещества различной природы, продуцируемого разнообразными клетками для выполнения функции стабилизации внутренней среды многоклеточного организма.

Выделяют три основные функции ТВС – защитную, трофическую (питающую) и опорную. Эти функции в различных тканях внутренней среды представлены в разных соотношениях. Рассмотрим отдельные ткани, принадлежащие к этой обширной группе.

10.3.1. Кровь

Кровь – одна из немногих тканей организма (наряду с лимфой и некоторыми другими), имеющая жидкую консистенцию. Кровь выполняет трофическую функцию – за счет переноса питательных веществ и кислорода к другим тканям, а также защитную функцию, связанную с иммунитетом.

Кровь состоит из *плазмы* и *форменных элементов*. Под форменными элементами подразумевают клетки крови и их производные. Ниже приводится морфологическая классификация и краткая характеристика форменных элементов крови позвоночных животных:

Лейкоциты	Гранулоциты – клетки с гранулярной цитоплазмой (под микроскопом видны окрашенные включения)	Базофилы – гранулы окрашиваются щелочными красителями, содержат гистамин (выделяется при аллергических реакциях), гепарин (предотвращает свёртывание крови) и другие биогенные амины.
		Эозинофилы – окрашиваются кислотными красителями, участвуют в аллергических и аутоиммунных реакциях.
		Нейтрофилы – окрашиваются и щелочными, и кислотными красителями, старые клетки имеют сегментированное ядро, способны к фагоцитозу.
	Агранулоциты – клетки с гомогенной цитоплазмой, без видимых включений	Моноциты – самые крупные клетки, имеют амебоидную форму, являются предшественниками тканевых макрофагов.
		Т-лимфоциты и В-лимфоциты – небольшие округлые клетки, обеспечивают реакции специфического иммунитета.
Тромбоциты (или кровяные пластинки)	Содержат серотонин, гистамин. Участвуют в образовании тромба при кровотечении.	
Эритроциты	Красные клетки крови, содержат гемоглобин, переносят кислород.	

Эритроциты (рис. 129) – клетки, осуществляющие перенос кислорода и частично углекислого газа в организме при участии *гемоглобина*. Этот белок-пигмент обратимо связывается с кислородом благодаря атомам железа, входящим в состав молекулы. Связанный с кислородом гемоглобин придаёт крови красный цвет. У моллюсков (за редким исключением) и некоторых других беспозвоночных животных кислород связывается не с железом, а с медью, за счет чего кровь (гемолимфа) имеет голубой цвет. Голубой пигмент крови, имеющий в своём составе атом меди, называется *гемоцианином*. У млекопитающих зрелые эритроциты представляют собой безъядерные двояковогнутые дисковидные клетки (ядро теряется во время дифференцировки), в отличие от эритроцитов других позвоночных, например, амфибий или птиц, которые сохраняют ядро.



Рис. 129. Эритроциты человека. Рисунок при меньшем и большем увеличении (по: Албертс и др., 1994).

Моноциты (рис. 130, А) – это особый многофункциональный тип *фагоцитов* (клеток, способных к пожиранию путем фагоцитоза), циркулирующий в крови в виде незрелой популяции *макрофагов*. Далее эти клетки выходят из кровяного русла и расселяются в тканях и органах, приобретая обычно специфические для каждой ткани и органа особенности. Зрелые тканевые макрофаги (рис. 130, Б) играют важную роль в фагоцитарной защитной деятельности (пожирают мёртвые, больные, разрушившиеся клетки и элементы тканей, способствуя их обновлению), а также участвуют в начальных и конечных этапах иммунной реакции. Кроме того, макрофаги выделяют различные ферменты, адгезивные белки, а также факторы, стимулирующие размножение других клеток.

Нейтрофилы (рис. 130, В) представляют собой еще одну разновидность фагоцитирующих клеток – *микрофагов*, поглощающих чужеродные или опасные для организма структуры. Зрелые нейтрофилы у человека циркулируют в крови несколько часов, после чего выходят в ткани, где через два-три дня погибают. Нейтрофилы, главным образом, обеспечивают борьбу с патогенными бактериями, а в тканях выполняют также ряд других,

специализированных функций – например, удаляют частицы пыли в легких или регулируют размножение симбиотической микрофлоры в толстом кишечнике. Помимо осуществления фагоцитоза нейтрофилы способны выделять вещества, действующие на нервные центры и клетки иммунной системы.

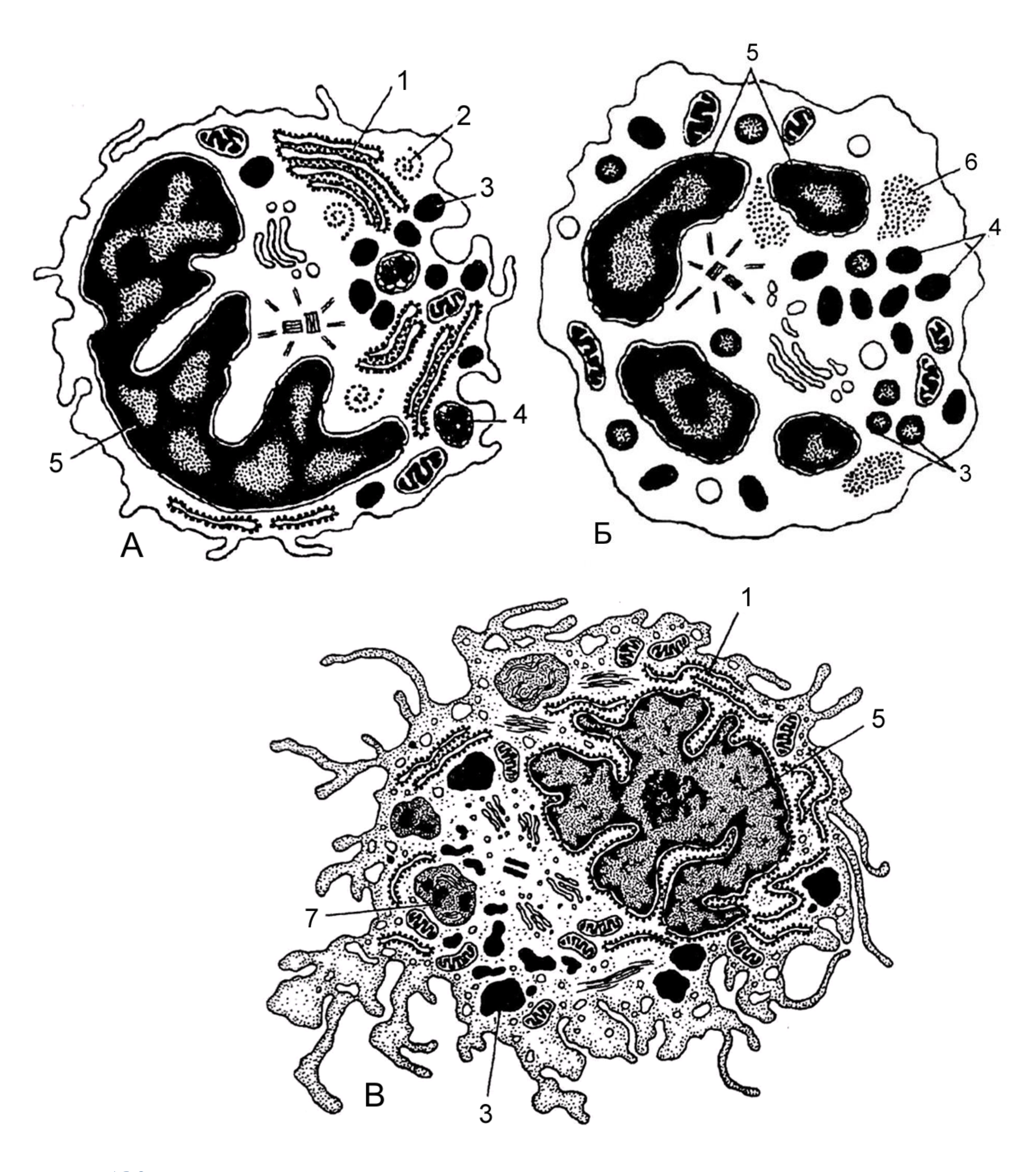


Рис. 130. Ультраструктурная организация моноцита (А), макрофага (Б) и нейтрофила (В) млекопитающих (по: Заварзин, 2000). 1 – ШЭР, 2 – полирибосомы, 3 – лизосомы, 4 – фаголизосомы, 5 – ядро, 6 – гликоген, 7 – специфические гранулы.

Базофилы и эозинофилы можно рассматривать как регуляторные клетки, участвующие в развитии *воспалительных реакций* в ответ на нарушение тканевого гомеостаза – например, при появлении в среде *антигенов* – генетически чужеродных агентов. Реакция воспаления инициируется базофилами за счет синтеза и секреции ими биологически активных веществ (БАВ) – *гепарина* (вещество, обладающее мощным антикоагулирующим действием), *гистамина* и других биогенных аминов (вещества, повышающие проницаемость стенок кровеносных сосудов для лимфоцитов и макрофагов, которые в случае заражения мигрируют из капилляров в ткань для борьбы с возбудителями).

Эозинофилы, наоборот, оказывают ингибирующее (тормозящее) воздействие на воспалительные процессы, индуцированные базофилами, ограничивая их развитие.

Лимфоциты – клетки иммунной системы, отвечающие за развитие высокоспецифических *иммунных реакций*, направленных на распознавание и уничтожение конкретных антигенов. Лимфоциты формируются в специальных *органах лимфопоэза* (тимус, лимфатические узлы), а затем из лимфатической системы попадают в кровь. Различают *гуморальный*, или *инфекционный иммунитет*, направленный на борьбу с бактериями (участвуют *В-лимфоциты*), и *клеточный иммунитет*, уничтожающий эукаритные клетки – либо чужеродные, либо собственные мутировавшие (главным образом, раковые) или зараженные вирусом (участвуют *Т-лимфоциты*). Специфическое уничтожение бактериальных антигенов осуществляется за счет выработки В-лимфоцитами *антител* – белков класса *иммуноглобулинов*, специфически связывающихся с антигенами, после чего последние агрегируют, дезактивируются и поглощаются фагоцитами. Особая группа В-лимфоцитов отвечает также за формирование *иммунной памяти* – сохранение информации об однажды атакованном антигене, благодаря чему ответная реакция на попадание этого антигена во второй раз будет произведена быстрее. В случае клеточного иммунитета зараженная или другая подлежащая уничтожению клетка атакуется особой популяцией Т-лимфоцитов – *Т-киллерами*. В процессах клеточного иммунитета задействованы также *Т-хелперы*, *Т-супрессоры* и макрофаги, регулирующие развитие иммунной реакции.

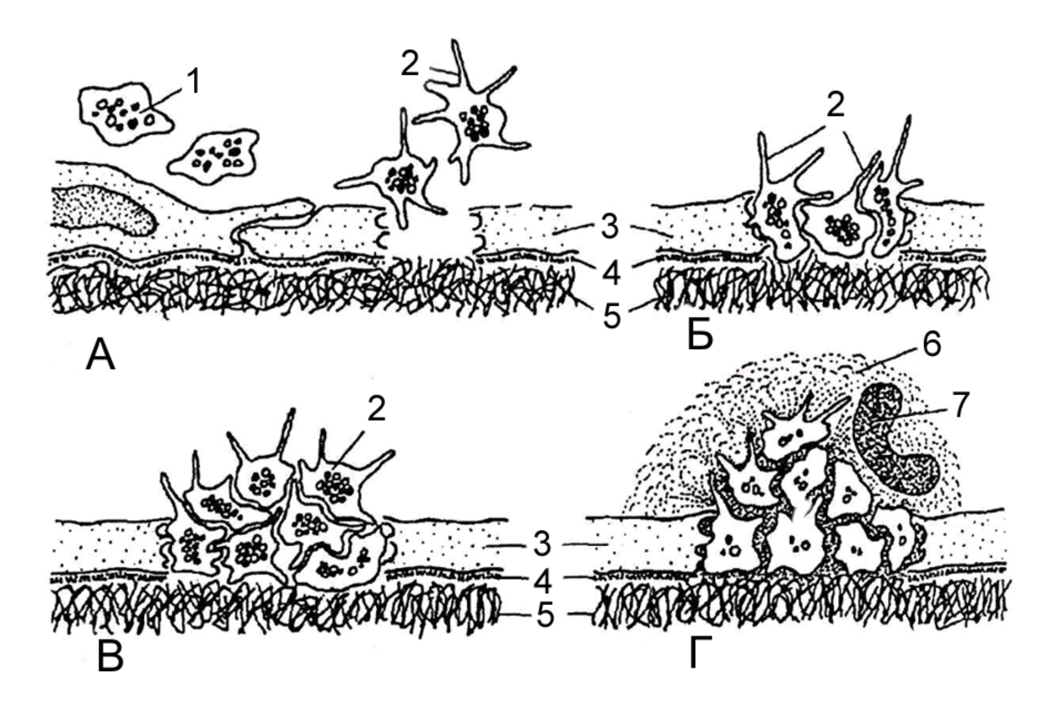


Рис. 131. Стадии образования тромба у млекопитающих (по: Заварзин, 2000). А – активация пластинок и их хемотаксис к месту повреждения сосуда, Б – адгезия пластинок к коллагену, В – образование многослойного белого тромба, Г – дегрануляция пластинок и осаждение фибрина. 1 – неактивная и 2 – активированная кровяные пластинки, 3 – эндотелиальная клетка (клетка внутренней стенки сосуда), 4 – базальная мембрана, 5 – коллаген, 6 – фибрин, 7 – эритроцит, механически включённый в сгусток.

Тромбоциты – клетки, обеспечивающие реакцию свертывания крови. У млекопитающих тромбоцитов нет, их функцию выполняют неклеточные элементы – *кровяные пластинки*, производные гигантских клеток *мегакариоцитов*, развивающихся в красном костном мозге. При повреждении кровеносного сосуда тромбоциты (или кровяные пластинки) активируются, перемещаются к месту повреждения и слипаются друг с другом и поверхностью сосуда, образуя клеточный сгусток. При этом из них высвобождаются гранулы, содержащие белковые и ферментные *факторы свёртывания*. Эти регуляторные факторы вызывают полимеризацию содержащегося в плазме крови растворимого белка

фибриногена с образованием нерастворимых нитей белка *фибрина*, на основе которых и формируется тромб (рис. 131).

10.3.2. Жировая ткань

Жировая ткань в основном выполняет в организме трофическую функцию, осуществляя синтез и накопление липидов в качестве пластического и энергетического запаса. Кроме того, жир обеспечивает механическую защиту тканей и органов за счет своих амортизационных свойств. Жировая ткань представлена крупными клетками *липоцитами*, в центральной части которых располагается одна или несколько крупных, заполненных жиром вакуолей (рис. 132). Вся активная цитоплазма и ядро оттеснены к периферии клетки. В липоцитах хорошо развит гладкий эндоплазматический ретикулум, поскольку именно он отвечает за синтез липидов. Липоциты особой разновидности жировой ткани, известной как *бурый жир* (в отличие от «обычного» белого жира), богаты митохондриями с необычным набором ферментов. Они легко окисляют жиры, но при этом синтезируют мало АТФ, так что большая часть энергии рассеивается в виде тепла. Благодаря этому бурый жир выполняет согревающую функцию. Бурая жировая ткань особенно развита у зимоспящих животных, а также у новорожденных детей в связи с несовершенством реакций теплообмена.

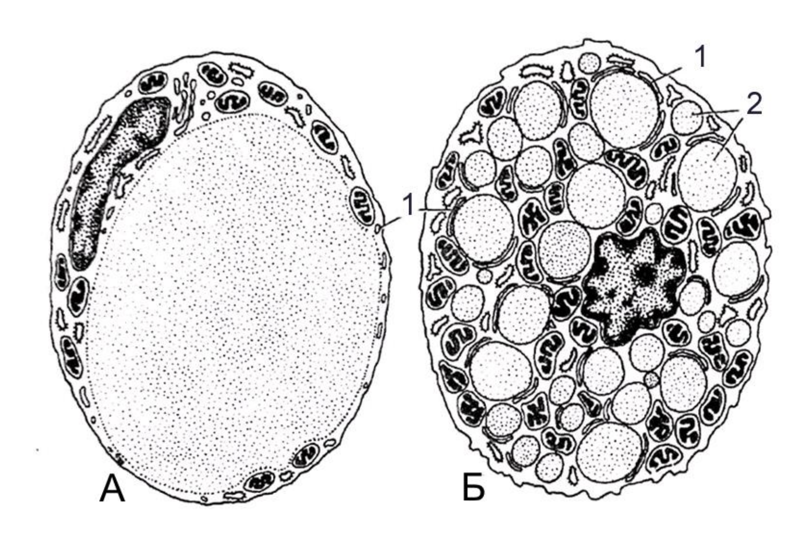


Рис. 132. Жировые клетки млекопитающих (по: Заварзин, 2000). А и Б – клетки белого и бурого жира. 1 – ГЭР, 2 – липидные капли.

10.3.3. Рыхлая соединительная ткань

Рыхлая соединительная ткань у позвоночных животных выполняет опорно-трофико-защитную функцию. Она образует прослойки во многих тканях, подстилает эпителии и сопровождает, таким образом, все органы. Рыхлая соединительная ткань богата кровеносными сосудами, благодаря чему она доставляет питательные вещества и кислород окружающим тканям.

Основной тип клеток рыхлой соединительной ткани – *фибробласты* (рис. 133). Это амебоидные клетки, способные к движению, размножению и синтезу *межклеточного вещества*, включающего в себя белковые *коллагеновые* и *эластиновые волокна* и аморфный полисахаридный *матрикс*. Конструкция межклеточного вещества напоминает железобетон, где белковые волокна играют роль арматуры, а полисахаридный матрикс – роль цемента. Белковые волокна пронизывают ткань в разных направлениях; коллаген обеспечивает ткани прочность, а эластин – упругость.

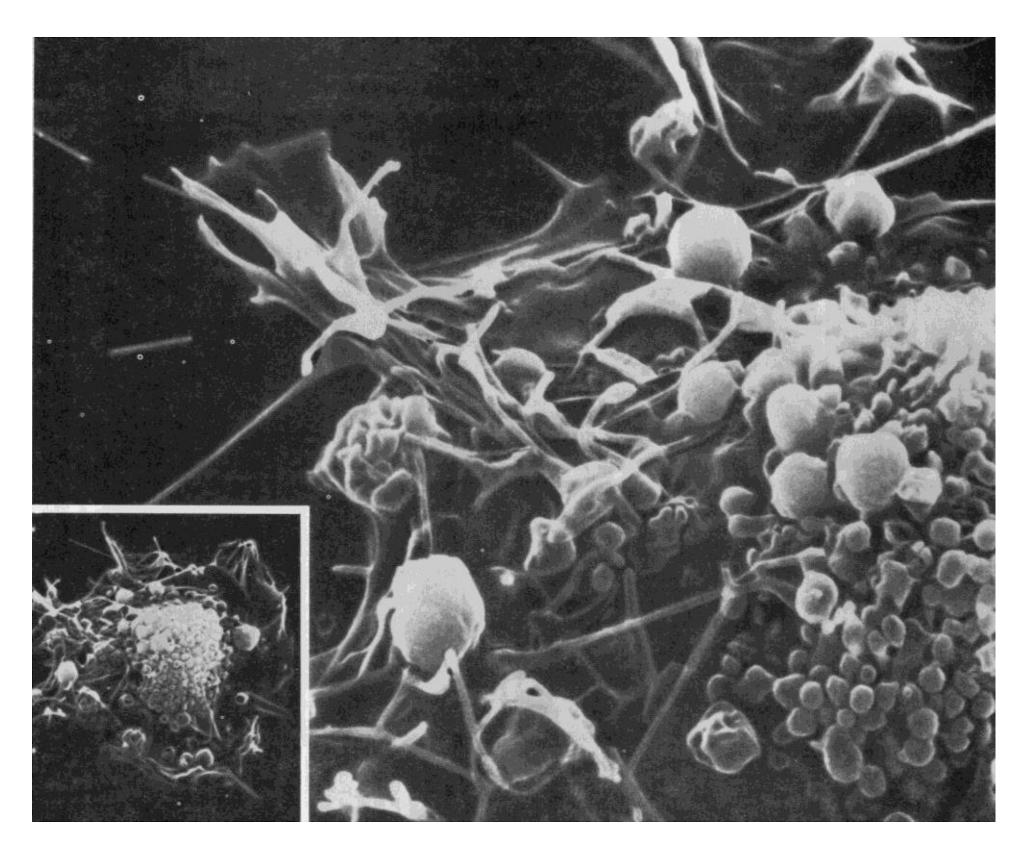


Рис. 133. Фибробласт в процессе распластывания под сканирующим электронном микроскопом. Микрошипы и ламеллоподии выбрасываются вдоль бахромчатых краёв, а по центру клетки над ядром выпячивается множество полукруглых выростов. На врезке показана вся клетка при меньшем увеличении.

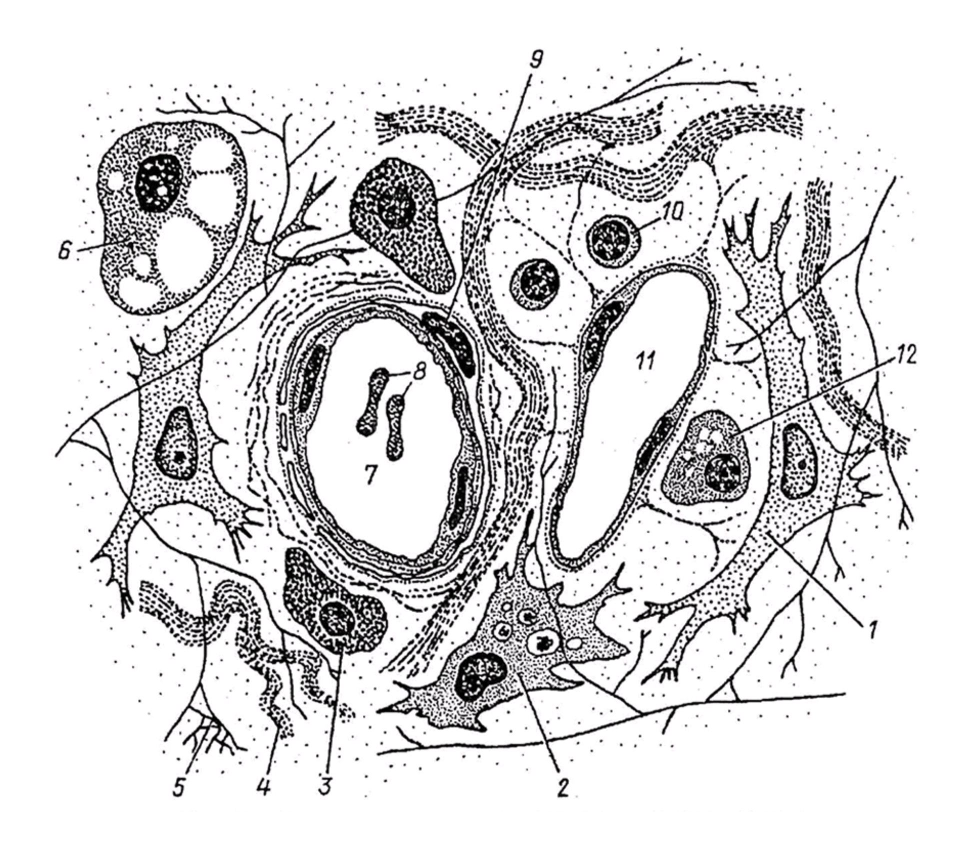


Рис. 134. Рыхлая соединительная ткань кожи млекопитающих (по: Заварзин, 2000). 1 – фибробласт, 2 – гистиоцит (разновидность макрофага), 3 – тучная клетка, 4 – коллагеновые волокна, 5 – эластические волокна, 6 – жировая клетка, 7 – капилляр, 8 – эритроциты, 9 – перицит, 10 – лимфоцит, 11 – лимфатический сосуд, 12 – плазматическая клетка.

Помимо фибробластов, клеточный состав рыхлой соединительной ткани включает в себя подвижные клеточные элементы – *гистиоциты* (соединительнотканные макрофаги), а также *жировые клетки*, *тучные клетки* (соединительнотканные базофилы) и *плазматические клетки* (производные В-лимфоцитов) (рис. 134).

10.3.4. Плотная соединительная ткань

Плотная соединительная ткань выполняет опорную функцию. Основной клеточный тип плотной соединительной ткани – *фиброциты*, представляющие собой терминальную (конечную) стадию дифференцировки фибробластов. Фиброциты, в отличие от фибробластов, теряют способность к перемещению и размножению, поэтому плотная соединительная ткань обновляется за счет фибробластов рыхлой соединительной ткани, образующей внутри нее прослойки. Межклеточное вещество плотной соединительной ткани также состоит из белковых волокон (коллагеновых и эластиновых), придающих ткани механическую прочность, и аморфного вещества полисахаридной природы. В зависимости от расположения белковых волокон плотная соединительная ткань подразделяется на *оформленную* и *неоформленную*. В неоформленной ткани волокна располагаются рыхло и в разных направлениях; оформленная ткань характеризуется упорядоченным, параллельным расположением волокон. Упорядоченная организация волокон определяется расположением фиброцитов, синтезирующих межклеточное вещество, в виде более или менее параллельных рядов, а расположение фиброцитов, в свою очередь, продиктовано структурой межклеточного вещества. Примером плотной неоформленной соединительной ткани является дерма кожи. Плотная оформленная соединительная ткань образует связки и сухожилия. Связки и сухожилия различаются по преимущественному содержанию того или иного типа волокон: в первом случае преобладают эластиновые волокна (поэтому связки хорошо растягиваются), а во втором – коллагеновые (рис. 135).

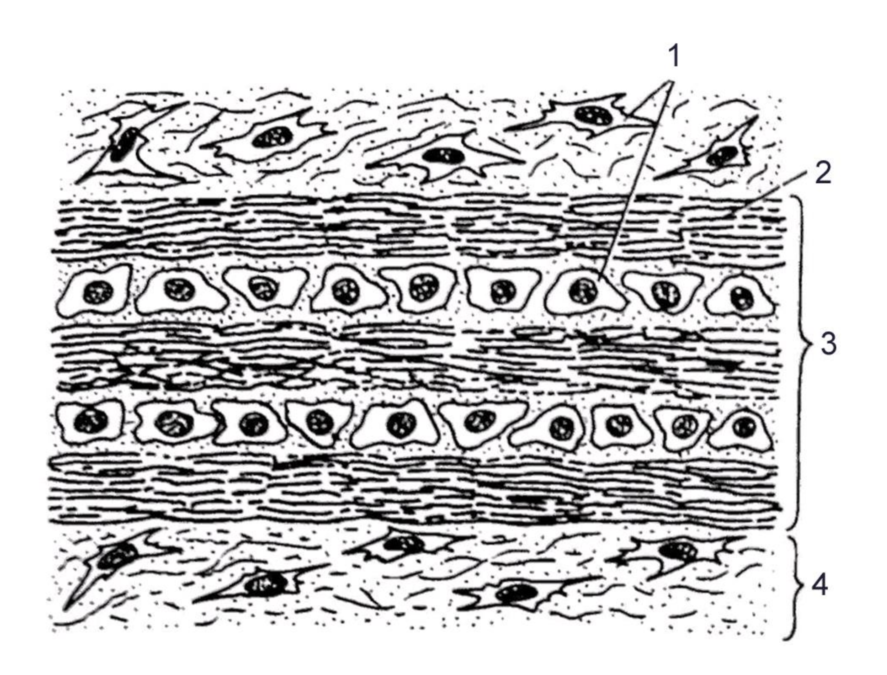


Рис. 135. Участок сухожилия млекопитающего (по: Заварзин, 2000). 1 – фибробласты – фиброциты, 2 – пучок коллагеновых волокон первого порядка, 3 – пучок коллагеновых волокон второго порядка, 4 – рыхлая соединительная ткань.

10.3.5. Хрящевая ткань

Хрящевая ткань является одной из разновидностей скелетных тканей организма. Она состоит из клеток и межклеточного вещества, которое представлено белковыми волокнами и аморфным матриксом сложного химического состава.

На поверхности хряща выделяется слой плотной соединительной ткани с хорошо развитой сетью кровеносных сосудов – *надхрящница*. Через надхрящницу путем диффузии питательных веществ осуществляется питание хряща, который сам не содержит кровеносных сосудов. Под надхрящницей залегает слой камбиальных клеток, которые делятся и обновляют запас дифференцированных хрящевых клеток. По мере дифференцировки клетки продвигаются от надхрящницы к центру хряща. Молодые дифференцированные клетки хрящевой ткани – *хондробласты* – энергично синтезируют межклеточное вещество и сохраняют способность к делению. Они располагаются в периферической области хряща. Зрелые хрящевые клетки – *хондроциты* – уже не способны к размножению и заметному синтезу межклеточного вещества. Они залегают ближе к центру и образуют в ткани хряща *изогенные группы*: каждая группа содержит хондроциты, являющиеся потомками (клоном) одного хондробласта (рис. 136).

В зависимости от вида промежуточных волокон у высших позвоночных выделяют *гиалиновый хрящ* (преобладают коллагеновые волокна) и *эластиновый хрящ* (преобладают эластиновые волокна). Наиболее широко распространены гиалиновые хрящи; они входят в состав почти всех суставных поверхностей. В гиалиновом хряще полисахаридный матрикс сульфатирован, что определяет его особые свойства – механическую прочность и, в то же время, проницаемость для органических соединений, воды и других веществ, необходимых для жизни клеток хряща. Со временем коллагеновые волокна гиалинового хряща связывают кальций, в результате чего хрящ обызвествляется и окостеневает. Окостенение гиалинового хряща происходит также вследствие травмы, приводящей к повреждению надхрящницы и прорастанию кровеносных сосудов в хрящевую ткань. Эластиновый хрящ встречается только в ушных раковинах. В отличие от предыдущего примера, эластиновый хрящ в норме не окостеневает.

10.3.6. Костная ткань

Для создания достаточно прочного внутреннего скелета у позвоночных животных в процессе эволюции появилась еще одна разновидность скелетных тканей, а именно костная ткань. Как и рассмотренные выше виды тканей, костная ткань состоит из клеток и межклеточного вещества. Особенностью межклеточного вещества является минерализация его компонентов солями кальция, что и придает костям особую прочность.

Кости могут возникать и развиваться как независимо (на основе эмбриональной соединительной ткани мезенхимы), так и путем замещения гиалинового хряща в результате его окостенения. Во втором случае проницаемая для диффузии питательных веществ надхрящница замещается на непроницаемую *надкостницу*, а для питания образующейся костной ткани вглубь бывшего хряща прорастают кровеносные сосуды. Под надкостницей располагаются камбиальные клетки. Дифференцированные костные клетки – *остеобласты* (промежуточная стадия дифференцировки, способны делиться) и *остеоциты* (конечная стадия дифференцировки, не способны делиться) вырабатывают межклеточное вещество – коллагеновые волокна и полисахаридный матрикс. Наиболее распространена *пластинчатая* костная ткань, образующая большинство костей в организме (рис. 137). В этом случае коллагеновые волокна ориентированы таким образом, что формируют *костные пластинки*, которые, в свою очередь, образуют концентрические структуры – *остеоны*. Остеон представляет собой систему цилиндров-пластин разного диаметра, вставленных один в другой; между цилиндрами-пластинами располагаются остеоциты. Внутри каждого остеона, в костных канальцах (*Гаверсовы каналы*), проходят кровеносные сосуды, так как плотное межклеточное вещество костной ткани непроницаемо для питательных веществ и продуктов метаболизма. Также в Гаверсовых каналах остеонов проходят нервы для иннервации костной

ткани. Соседние остеоны сообщаются между собой поперечными *Фолькмановыми каналами*. Помимо цилиндрических костных пластинок остеонов, в толще кости имеются *наружные*, *внутренние* и *вставочные пластинки*.

Обновление костной ткани осуществляется за счет деятельности особых костных макрофагов – многоядерных клеток *остеокластов*. Остеокласты разрушают старые костные пластинки, а на их месте остеобласты синтезируют новые. Благодаря скоординированной деятельности остеобластов и остеокластов скелет человека полностью обновляется каждые десять лет.

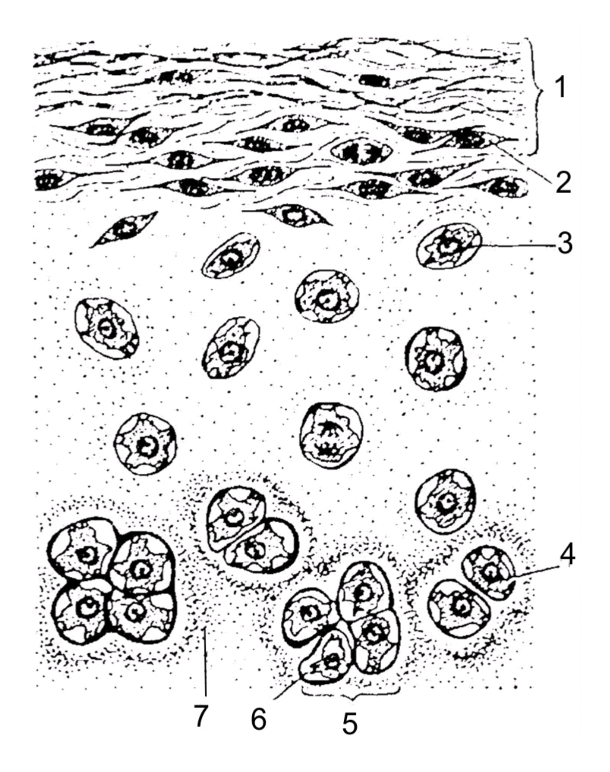


Рис. 136. Гиалиновый хрящ трахеи кошки (по: Заварзин, 2000). 1 – надхрящница, 2 – камбиальные клетки, 3 – хондробласты, 4 – хондроциты, 5 – изогенная группа, 6 – лакуна хондроцита, 7 – матрикс хряща.

Рис. 137. Пластинчатая костная ткань млекопитающих (по: Заварзин, 2000). 1 – надкостница, 2, 3 – внутренние и наружные генеральные пластинки, 4 – остеон, 5 – костный каналец (Гаверсов канал), 6 – вставочные пластинки, 7 – остеоциты.

10.4. Мышечные ткани

Мышечные ткани многоклеточных животных специализированы на выполнение функций сокращения и движения. В основе дифференцировки мышечных клеток лежит гипертрофия актин-миозиновой двигательной системы, имеющейся во всех животных клетках. У позвоночных животных все разновидности мышечных тканей происходят из мезодермы, но из разных ее участков. По строению и организации миофибрилл мышечная ткань делится на *гладкую* и *поперечнополосатую*, а у беспозвоночных животных бывают еще и *косоисчерченные* мышечные ткани. Поперечнополосатая мышечная ткань, в свою очередь, подразделяется на *скелетную* и *сердечную*.

10.4.1. Скелетная мускулатура

Скелетные мышцы позвоночных происходят из миотома сомитов (см. раздел 9.5). Мышечное волокно поперечнополосатой мышцы представляет собой *симпласт* – ансамбль из большого числа клеток, слившихся друг с другом и не разделенных мембранными перегородками. В таком мышечном волокне симпластического типа ядра слившихся клеток расположены на периферии волокна (под общей плазмалеммой), а вся его центральная часть занята *миофибриллами* – сократительными нитями, построенными на основе актин-миозинового комплекса (см. раздел 5.3). На поверхности мышечного волокна встречаются мелкие *клетки-сателлиты* – недифференцированные клетки, образующие камбиальный фонд скелетной мышцы (рис. 138).

Каждая миофибрилла состоит из чередующихся пучков нитей – тонких микрофиламентов, образованных белком актином, и более толстых нитей, образованных белком миозином. Пучки тонких и толстых нитей соседних миофибрилл в пределах одного мышечного волокна располагаются строго друг под другом, благодаря чему все волокно приобретает поперечнополосатый рисунок. Светлые поперечные полосы получили название *изотропных дисков* (*I-дисков*), темные поперечные полосы – *анизотропных дисков* (*A-дисков*). Каждый I-диск разделен посередине очень узкой *Z-полоской*, образованной глобулами белка альфа-актинина, посредством которого соседние актиновые филаменты крепятся друг к другу. Посередине каждого А-диска проходит *М-полоска*, образованная белками, соединяющими между собой хвостики разнонаправленных пучков молекул миозина. Участок мышечного волокна, ограниченный двумя Z-полосками, образует элементарную единицу сокращения – *саркомер*. Подробнее об организации актин-миозинового комплекса в мышцах и механизме мышечного сокращения излагалось в главе 5, посвященной опорно-двигательному аппарату клетки.

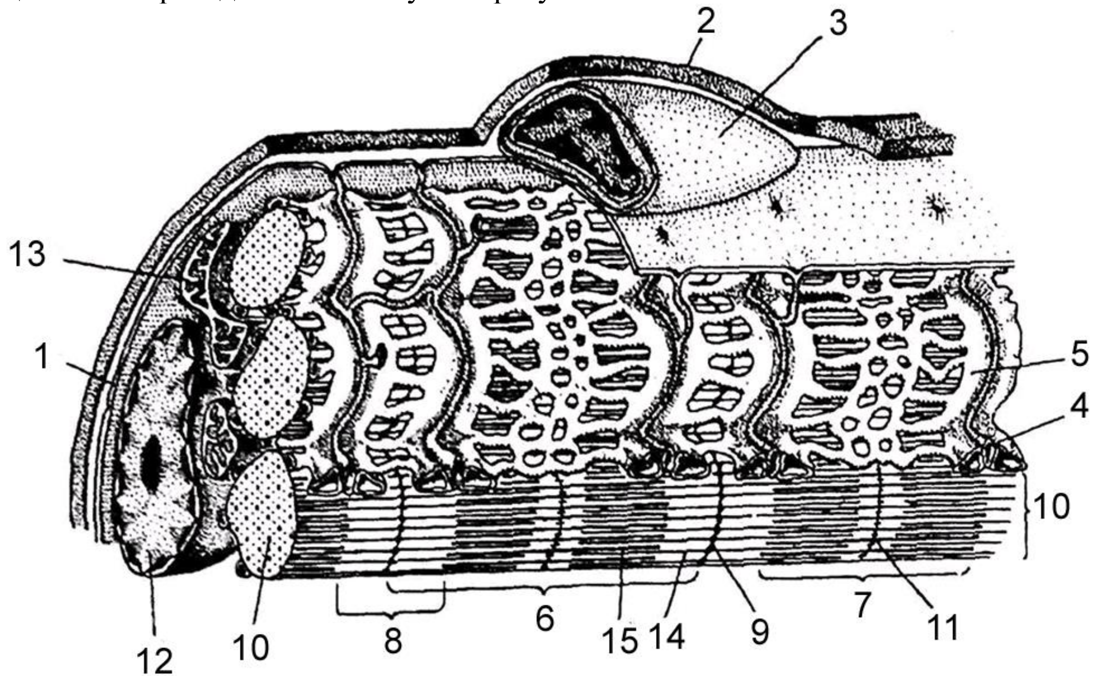


Рис. 140. Сердечная мышечная ткань млекопитающих (по: Заварзин, 2000). 1 – сарколемма, 2 – плазмалемма, 3 – митохондрия, 4 – миофибрилла, 5 – саркоплазма, 6 – L-каналы, 7 – актиновая фибрилла, 8 – М-полоска, 9 – вставочная пластинка, 10 – изотропный диск, 11 – анизотропный диск, 12 – Z-полоска, 13 – миозиновая фибрилла, 14 – десмосома, 15 – нексус, 16 – гипертрофия белков цитоскелета в области контакта саркомеров двух кардиомиоцитов, 17 – Т-каналы.

Между миофибриллами располагается система продольных (*L*) и поперечных (*T*) каналов. L-каналы образованы цистернами гладкого эндоплазматического ретикулума (ГЭР), который в мышечных клетках выполняет специализированную функцию депо ионов кальция, регулирующих процесс мышечного сокращения. Т-каналы представляют собой

глубокие щелевидные впячивания плазмалеммы мышечного волокна, увеличивающие площадь восприятия и скорость распространения нервных импульсов, поступающих от нейронов, иннервирующих данную мышцу. По Т- и L-каналам потенциал действия мгновенно распространяется по всей толще волокна, что приводит к синхронному выбросу ионов Ca^{2+} из ГЭР в цитоплазму и сокращению всех миофибрилл. Цитоплазма мышечного волокна пронизана густой сетью разветвлённых митохондрий, так как сокращение миофибрилл требует больших энергетических затрат (рис. 138).

10.4.2. Сердечная мускулатура

Поперечнополосатая мускулатура сердца происходит из клеток целомического эпителия, который, в свою очередь, является производным висцерального листка боковой пластинки мезодермы. Её волокна имеют не симпластическое, а клеточное строение – границы между клетками *кардиомиоцитами*, образующими волокно, сохраняются. Подобно скелетным мышцам, сердечная мышца выглядит исчерченной (поперечнополосатой), что отражает весьма сходную организацию актиновых и миозиновых филаментов в этих тканях (рис. 139). Сокращение сердечной мышцы запускается аналогичным механизмом: потенциал действия, достигнув Т-каналов, вызывает выброс из гладкого ретикулума Ca^{2+}, который стимулирует сокращение. Клетки сердечной мышцы соединены между собой конец в конец; места их соединения утолщены и выглядят как *вставочные пластинки*. Вставочные пластинки выполняют, по крайней мере, три функции: 1) осуществляют механическое соединение клеток при помощи десмосом; 2) связывают в одну цепь актиновые филаменты, входящие в состав миофибрилл соседних клеток; 3) образуют щелевые контакты (*нексусы*), благодаря которым потенциал действия быстро распространяется от одной клетки к другой, синхронизируя их сокращение (см. также раздел 7.5).

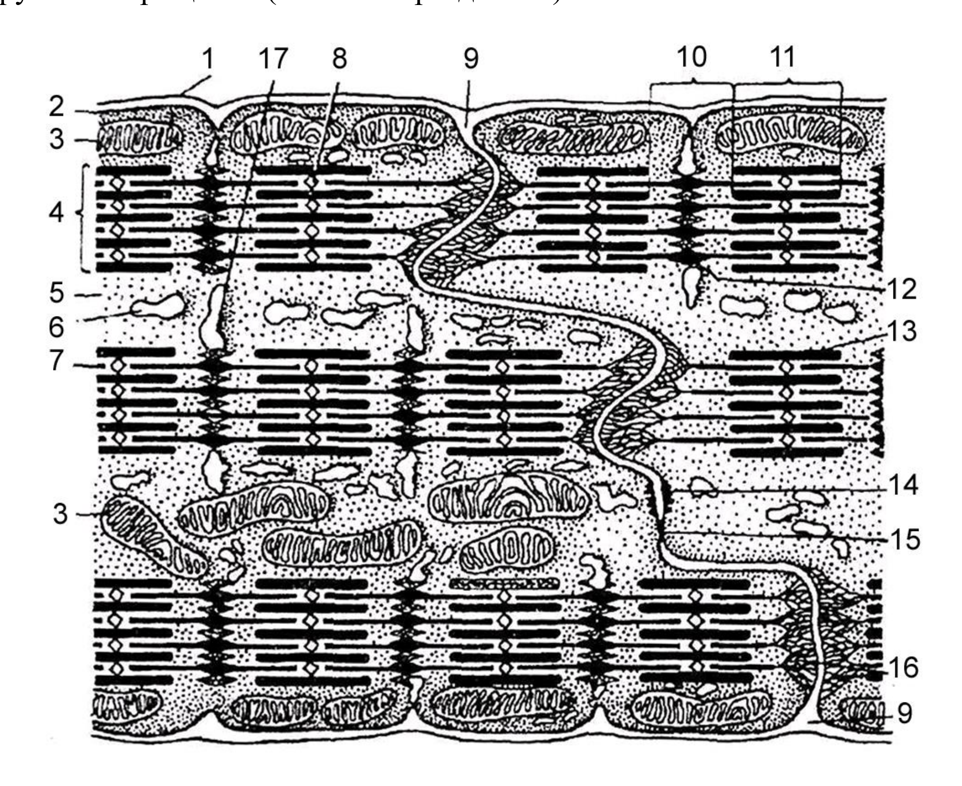


Рис. 139. Сердечная мышечная ткань млекопитающих (по: Заварзин, 2000). 1 – сарколемма, 2 – плазмалемма, 3 – митохондрия, 4 – миофибрилла, 5 – саркоплазма, 6 – L-каналы, 7 – актиновая фибрилла, 8 – М-полоска, 9 – вставочная пластинка, 10 – изотропный диск, 11 – анизотропный диск, 12 – Z-полоска, 13 – миозиновая фибрилла, 14 – десмосома, 15 – нексус, 16 – гипертрофия белков цитоскелета в области контакта саркомеров двух кардиомиоцитов, 17 – Т-каналы.

10.4.3. Гладкая мускулатура

Гладкая мускулатура позвоночных животных происходит из висцерального листка боковой пластинки мезодермы. Это наиболее «примитивная» мышца – в том смысле, что она имеет наибольшее сходство с немышечными клетками и лишена исчерченности, чем и обусловлено ее название. Гладкая мускулатура образует мышечную выстилку стенок внутренних органов: желудка, кишки, матки, мочевого пузыря, артерий, железистых протоков и других частей тела, где необходимо медленное и продолжительное сокращение. Сокращение гладких мышц непроизвольно, рефлекторно и не поддаётся сознательному контролю.

Гладкомышечная ткань состоит из слоев удлиненных веретенообразных клеток, в каждой из которых имеется одно ядро. В клетках присутствуют и толстые (миозиновые), и тонкие (актиновые) филаменты, но они не организованы в столь упорядоченные структуры, как в скелетной или сердечной мускулатуре (в частности, они не образуют отдельных миофибрилл). Филаменты сократительного аппарата гладкомышечных клеток распределены более диффузно, хотя в основном они вытянуты вдоль длинной оси клетки, соприкасаясь под косым углом с плазматической мембраной в дисковидных контактах, соединяющих группы клеток.

Сократительный аппарат гладкой мускулатуры неспособен к такому быстрому сокращению, как миофибриллы поперечнополосатых мышц. Однако он допускает гораздо б*о*льшую степень укорочения и поэтому может осуществлять значительные перемещения, несмотря на отсутствие такой системы рычагов, как кости. Схема строения гладкомышечной клетки приводилась выше, в главе 5 (рис. 76).

10.5. Нервная ткань

Нервная ткань имеет эктодермальное происхождение и состоит из *нервных клеток* (*нейронов*) и *глиальных клеток* (*нейроглии*). Значительный объем составляет также межклеточное вещество, представленное разнообразными белковыми волокнами (белки *витронектин*, *ламинин* и др.) и специфическим аморфным матриксом.

Структурной единицей в цепи передачи нервного импульса является нейрон. В составе нейрона можно выделить *тело* клетки и *отростки*: *дендриты* (как правило, многочисленные отростки, по которым сигнал поступает к телу клетки) и *аксон* (как правило, единичный отросток, по которому сигнал распространяется от тела данной клетки к другим клеткам) (рис.140). По количеству отростков нейроны делятся на *униполярные* (один отросток), *биполярные* (два отростка) и *мультиполярные* (более двух отростков).

С помощью аксонов и дендритов нейроны контактируют между собой и с другими клетками. Эти контакты называются *синапсами*. Множество нейронов, соединённых своими отростками с помощью синапсов, образуют сложнейшие *нервные сети*, в которых происходит обработка сигналов. Нервная система человека состоит из примерно 10^{10} нервных клеток, каждая из которых образует тысячи контактов с другими нейронами. Механизм передачи нервного импульса уже рассматривался нами в разделе 7.5, посвященном клеточным контактам, однако остановимся на этом вопросе дополнительно.

Нервные клетки эксплуатируют в своей деятельности общее свойство живых клеток возбуждаться и реагировать на внешний импульс, используя электрополяризованность плазматической мембраны. Неравновесное распределение различных ионов, как положительно заряженных, так и отрицательно заряженных, по обе стороны мембраны создает на ней электрический заряд определенной величины – *потенциал покоя*. Нейроны генерируют сигналы (нервные импульсы), представляющие собой распространяющиеся по плазматической мембране локальные изменения ее электрического заряда, – такой измененный заряд мембраны называется *потенциалом действия* (*ПД*). Причиной развития ПД является открытие в мембране натриевых и калиевых каналов пассивного транспорта, происходящее в ответ на внешнее раздражение. Вхождение ионов Na^+ в клетку обеспечивает восходящую фазу пика ПД, т.е. *деполяризацию* (изменение заряда + на -) мембраны, а

запаздывающий выход из клетки K^+ участвует в создании нисходящей фазы пика – *реполяризации* (восстановление исходного потенциала покоя). Нейроны способны преобразовывать внешние импульсы (свет, звук, давление, воздействие химических веществ), воспринимаемые при помощи специальных рецепторов, в потенциалы действия и передавать их друг другу. Также нейроны способны суммировать потенциалы, генерировать и гасить их. С этой позиции нервную систему можно рассматривать как систему приёма, обработки и анализа информации; элементарными битами информации (нулями и единицами, с помощью которых обрабатываемая информация закодирована) здесь являются тормозные и возбуждающие импульсы. В форме тех же самых нервных импульсов (тормозных и возбуждающих) нервная система «отдаёт команды» всем системам и органам организма. Специальные возбудимые клетки в иннервируемых тканях и органах способны воспринимать нервные импульсы и трансформировать их в собственную специфическую активность: сокращение мышечной клетки, синтез секрета железистой клеткой и т.д. Таким образом, нервная система, благодаря особенностям организации, функционирования и взаимодействия нейронов, осуществляет (наряду с гуморальной и иммунной системами) поддержание внутреннего гомеостаза и саморегуляцию процессов в многоклеточном организме.

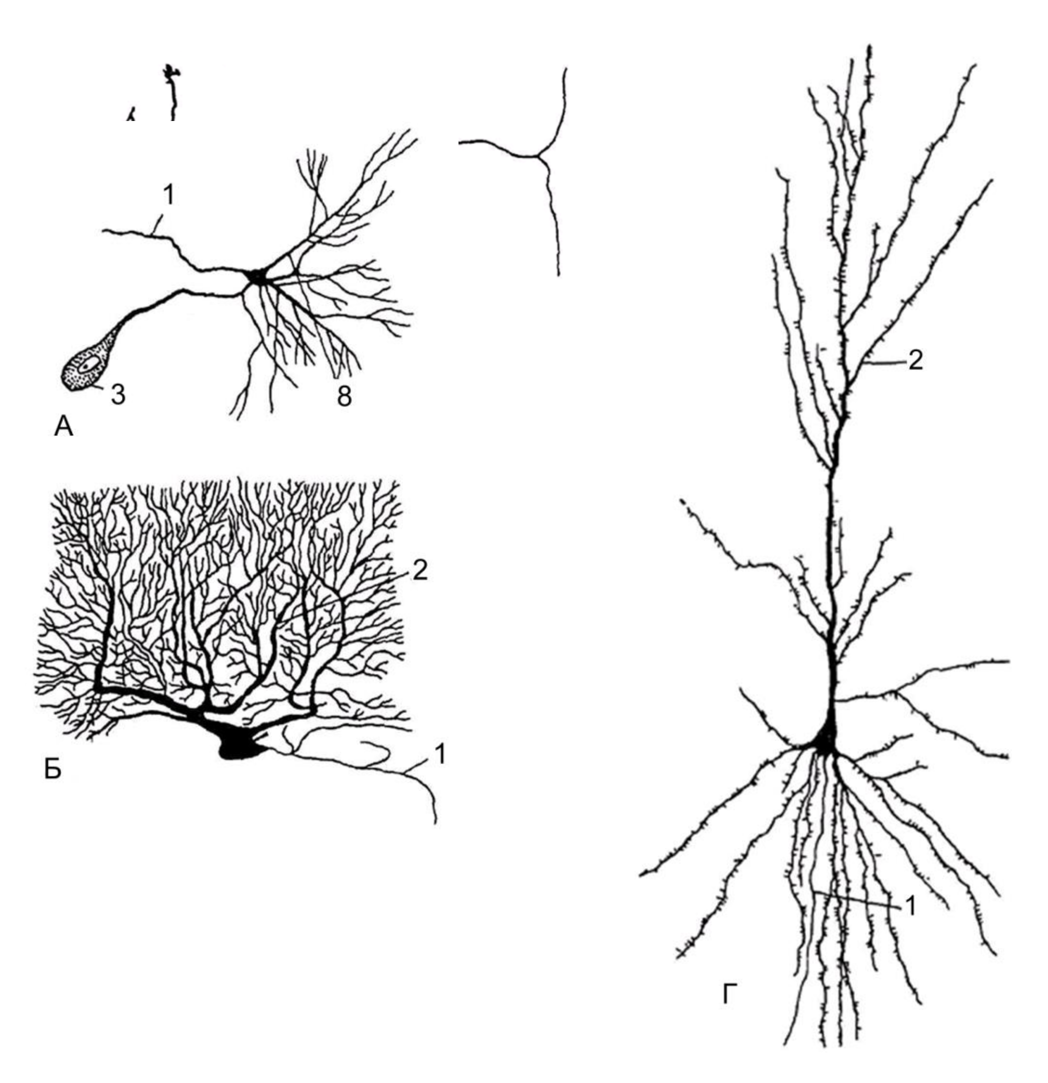


Рис. 140. Псевдоуниполярные (А) и мультиполярные (Б—Г) нейроны (по: Заварзин, 2000). А – ассоциативный нейрон насекомых, Б – клетки Пуркинье, В – клетки-зёрна коры мозжечка, Г – пирамидная клетка коры полушарий. 1 – аксон, 2 – дендрит, 3 – тело нейрона.

Помимо нейронов, в составе нервной ткани выделяют различные виды вспомогательных глиальных клеток, в совокупности называемых также нейроглией. Нейроглиальные клетки служат опорой, защитой и источником питательных веществ для нейронов. Одной из специфических функций нейроглии является создание защитного *гематоэнцефалического* (т.е. между кровью и мозгом) *барьера*. Необходимость такой защиты мозга продиктована тем, что иммунная система организма не распознает центральную нервную систему как часть собственного организма, и атаковала бы ее так же, как любой чужеродный антиген, если бы не гематоэнцефалический барьер. Функцию гематоэнцефалического барьера выполняет особый тип глиальных клеток – *астроциты* (*звёздчатые клетки*), соприкасающиеся своими отростками с телом нейрона с одной стороны и кровеносными капиллярами с другой, защищая нейрон от прямого контакта с кровью и, соответственно, с иммунными клетками. Другой тип глиальных клеток – *Шванновские клетки* – участвует в создании *миелиновых оболочек*, покрывающих аксоны большинства нейронов (рис. 141). Шванновская клетка в буквальном смысле «накручивается» на аксон как тесто на скалку, формируя из своей мембраны плотный многослойный миелиновый футляр, играющий роль изоляционной ленты. Этот футляр принципиально изменяет электрические свойства клетки и скорость передачи сигнала. Липидная изоляция приводит к тому, что потенциал действия возникает не по всей длине нервного волокна, а лишь на небольших обнажённых участках между Шванновскими клетками – в так называемых *перехватах Ранвье*. От одного перехвата Ранвье до другого сигнал распространяется по изолированному волокну в виде электромагнитных полей, что происходит практически мгновенно. Такой способ передачи нервного импульса, не требующий деполяризации мембраны на каждом отдельно взятом участке аксона, значительно экономит ресурсы клетки на генерацию потенциала действия и увеличивает скорость передачи импульса.

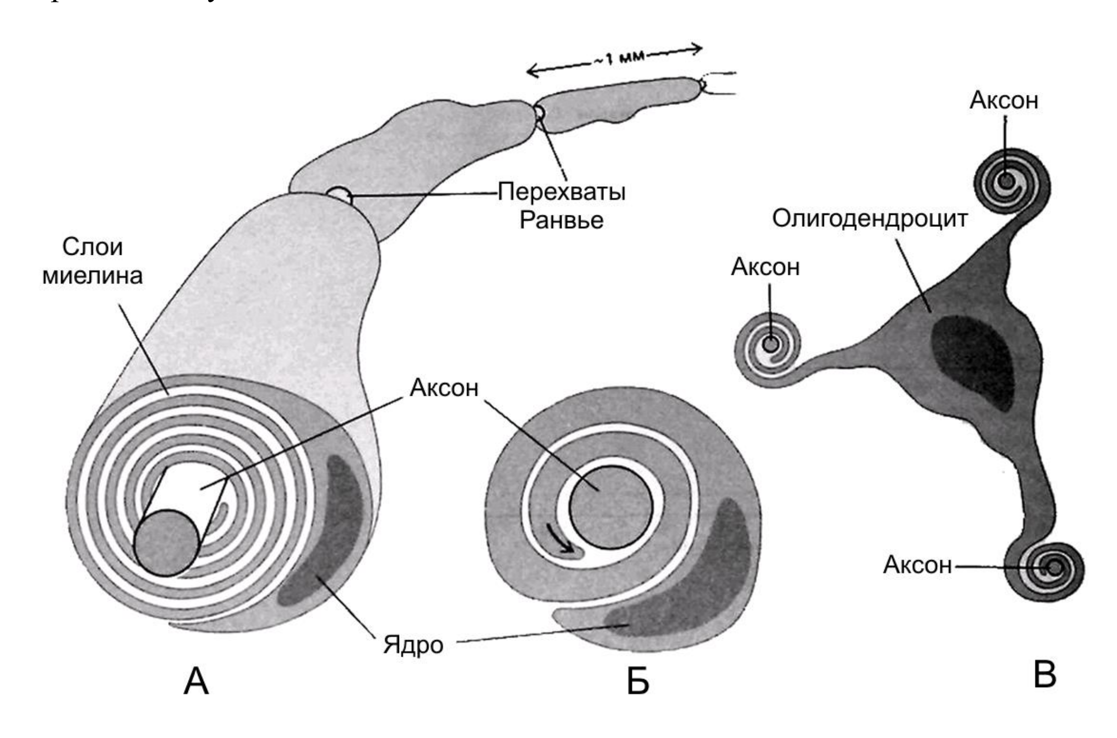


Рис. 141. А – схематическое изображение миелинизированного аксона. Б – схематическое изображение Шванновской клетки на начальной стадии образования спирали миелина вокруг аксона во время его развития. Наматывание мембраны Шванновской клетки на аксон осуществляется за счёт роста её внутреннего края (показано стрелкой). В – схематическое изображение олигодендроцита, который формирует миелиновые оболочки в центральной нервной системе. Один олигодендроцит миелинизирует сразу несколько аксонов (по: Албертс и др., 1994).

Нервная ткань и формируемые ею структуры закономерно усложнялись в ходе эволюции многоклеточных животных. Впервые нервная система появляется у гидр и медуз; в этом примитивном варианте нейроны рассеяны диффузно и образуют сетчатую нервную систему. У более высокоорганизованных беспозвоночных животных нейроны объединяются в *нервные узлы* – *ганглии*, что увеличивает возможности для создания многочисленных синаптических контактов между группами нейронов. Ганглии могут образовывать цепочки (например, брюшные нервные цепочки насекомых) или сливаться в более сложные *нервные центры*. Наиболее сложно организованы нервные центры у позвоночных животных, особенно у млекопитающих и человека. Они формируют центральную нервную систему (ЦНС), состоящую из двух отделов – *спинного мозга* (рис. 142) и *головного мозга* (рис. 143). Также выделяют *периферическую нервную систему*, образованную расположенными в разных частях тела нервными узлами и *нервами* – длинными пучками отростков нейронов, заключенными в соединительнотканную оболочку.

Спинной мозг позвоночных животных имеет трехзональное строение (рис142). В центральной части спинного мозга имеется *спинномозговой канал*, выстланный слоем *эпендимных клеток*, относящихся к особому типу нейроглии. Спинномозговой канал представляет собой остаток нейроцеля – полости нервной трубки (см. раздел 9.5). Следующая зона спинного мозга образована *сером веществом*, содержащим тела нейронов и нейроглиальные клетки. Серое вещество формирует характерную структуру в виде бабочки. В его составе выделяют *задние рога*, принимающие сигналы от *чувствительных нейронов* периферической нервной системы, *передние рога*, где залегают тела *двигательных нейронов* и от которых переработанная информация поступает к органам-мишеням, а также *средние рога*, содержащие *вставочные нейроны*, передающие сигнал с чувствительных нейронов на двигательные нейроны. Третья, периферическая зона спинного мозга представляет собой *белое вещество*, образованное миелинизированными отростками нейронов – *нервными волокнами*. Нервные волокна образую *восходящие* и *нисходящие проводящие пучки*, соединяющие разные отделы спинного мозга между собой, а также с головным мозгом.

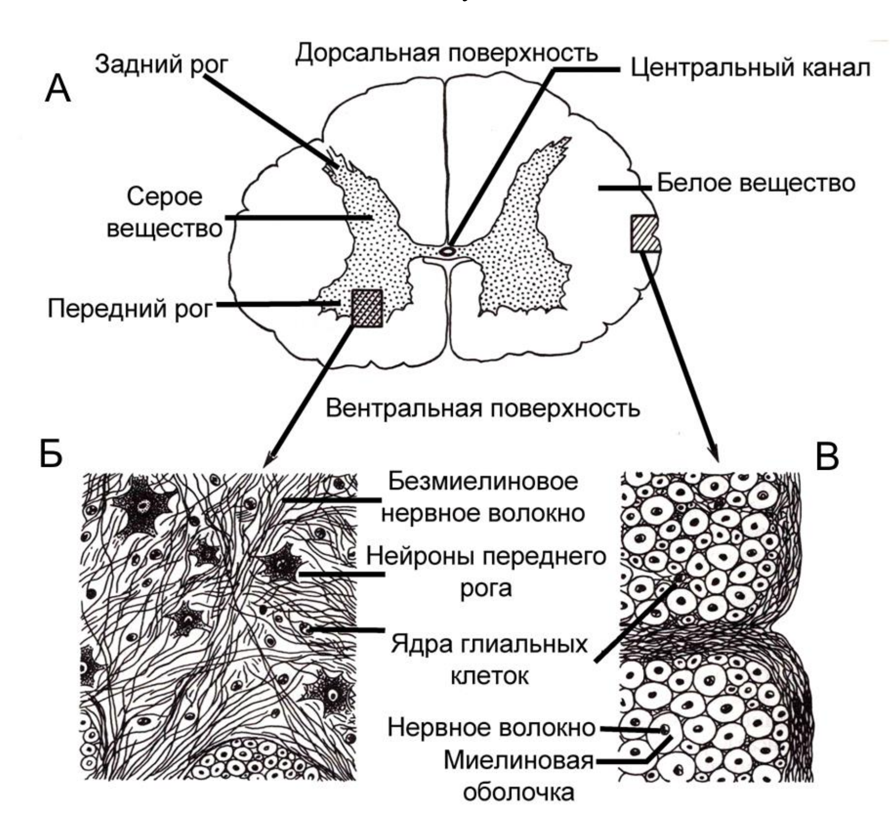


Рис. 142. Схема поперечного среза спинного мозга. А – общий вид, Б – тонкое строение серого вещества, В – тонкое строение белого вещества (по: Хэм, Кормак, 1983).

Головной мозг имеет более сложное строение – как анатомическое (рис. 143), так и гистологическое (рис. 144). В головном мозге можно выделить ряд основных отделов: *ствол* (включает *продолговатый мозг, мост, средний мозг, промежуточный мозг*), *мозжечок* и *большие полушария*. При вхождении в продолговатый мозг спинномозговой канал расширяется и образует полость *четвертого желудочка*, который соединяется с полостью *третьего желудочка*, расположенного в промежуточном мозге. Третий желудочек, в свою очередь, сообщается со *вторым* и *первым желудочками* больших полушарий, или *боковыми желудочками* (рис. 143). Стенки желудочков головного мозга, так же, как и спинномозговой канал, выстланы эпендимными клетками. Ствол головного мозга имеет сходную со спинным мозгом трехзональную организацию – слой эпендимы, слой серого вещества и слой белого вещества. Серое вещество компонентов ствола представлено крупными скоплениями тел нейронов – *ядрами*, вокруг которых располагаются проводящие пути белого вещества. В мозжечке и больших полушариях также имеются многочисленные ядра серого вещества, покрытые белым веществом, поверх которого появляется дополнительный слой серого вещества – *кора*, образованная несколькими слоями нейронов (три слоя нейронов в коре мозжечка и шесть слоев – в коре больших полушарий) (рис. 144). В коре мозжечка выделяют три основных типа нейронов – *клетки-зерна, клетки Гольджи* и *клетки Пуркинье*. Последние имеют крупные размеры и образуют мощную разветвленную сеть дендритов, выходящих на периферию серого вещества коры мозжечка. Основными клеточными типами нейронов коры больших полушарий являются *гигантские пирамидные клетки*, а также несколько разновидностей тормозных нейронов. Наибольшего развития кора больших полушарий достигает у млекопитающих – у них появляется так называемая *новая кора*, или *неокортекс*, отвечающая за функции высшей нервной деятельности, включая сознание и мышление.

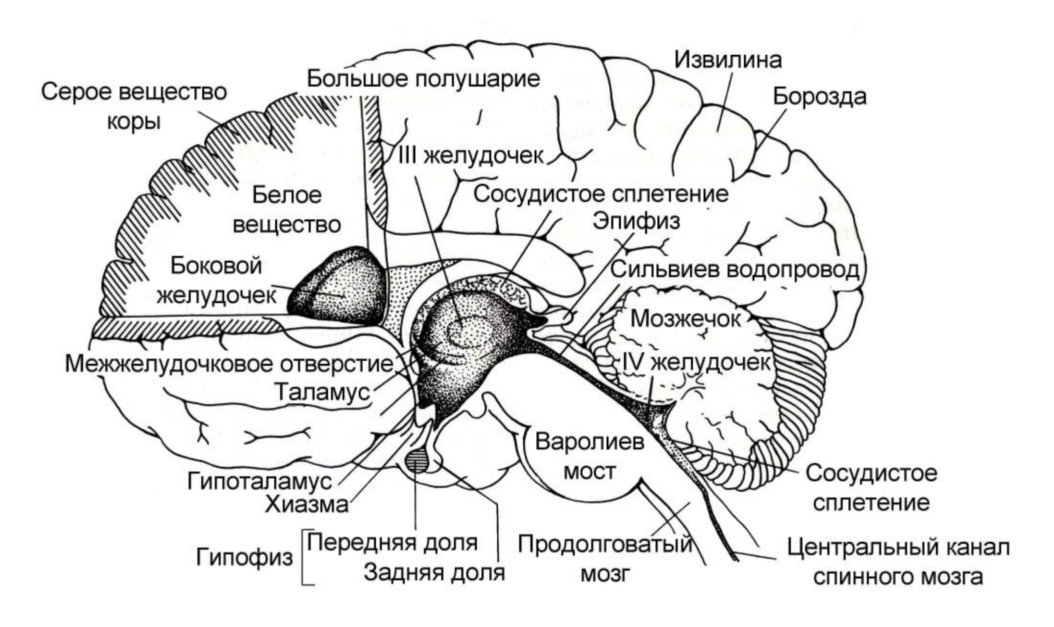


Рис. 143. Сагиттальный срез головного мозга человека. Участок лобной доли (слева сверху) удален, чтобы показать боковой желудочек. Затушеваны полости, которые первоначально были просветом нервной трубки (по: Хэм, Кормак, 1983).

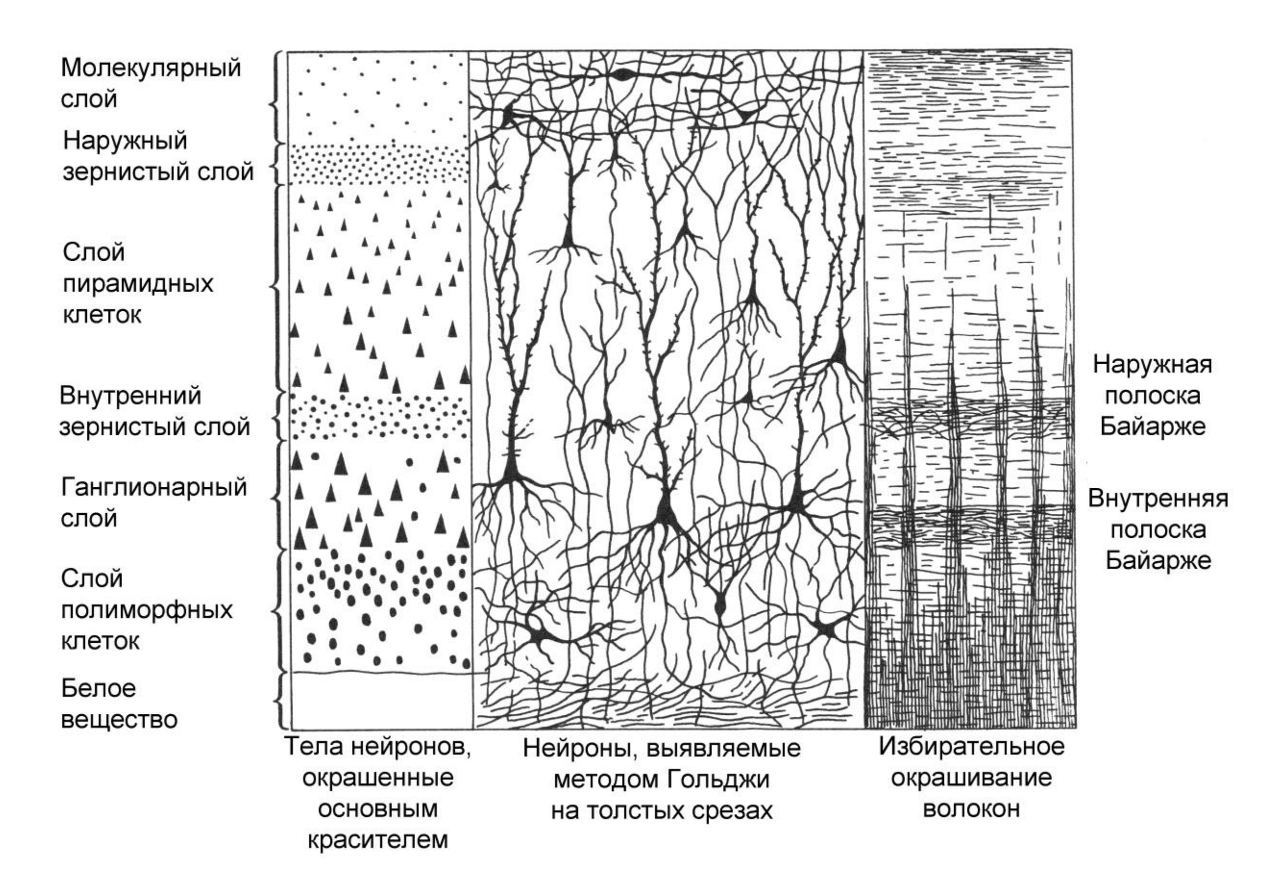


Рис. 144. Схема слоев коры больших полушарий головного мозга человека при различных методах окрашивания (по: Хэм, Кормак, 1983).

Рекомендуемая литература

1. *Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж., Рэфф М., Робертс К., Уотсон Дж. Д.* Молекулярная биология клетки: в 3-х т. М.: Мир, 1994.

2. *Анисимов А.П.* Введение в биологию. Владивосток: Изд-во Дальневосточного университета, 2008.

3. *Газарян К.Г., Белоусов Л.В.* Биология индивидуального развития животных. М.: Высшая Школа, 1983.

4. *Гилберт С.* Биология развития: в 3-х т. М.: Мир, 1993.

5. *Дондуа А.К.* Биология развития: в 2-х т. Изд-во С.-Пб. университета, 2005.

6. *Заварзин А.А., Харазова А.Д., Молитвин М.Н.* Биология клетки (общая цитология). Изд-во С.-Пб. университета, 1992.

7. *Заварзин А.А.* Сравнительная гистология. Изд-во С.-Пб. университета, 2000.

8. *Токин Б.П.* Общая эмбриология. М.: Высшая школа, 1987.

9. *Хэм А., Кормак Д.* Гистология: в 5 т. М.: Мир, 1982-1983.

10. *Ченцов Ю.С.* Введение в клеточную биологию. 4-е издание. М.: изд-во ИКЦ Академкнига, 2004.

СОДЕРЖАНИЕ

Учебное издание

Анисимова Анна Алимовна
Каретин Юрий Александрович
Анисимов Алим Петрович

БИОЛОГИЯ КЛЕТКИ С ОСНОВАМИ ЭМБРИОЛОГИИ И ГИСТОЛОГИИ

Учебное пособие

Редактор *Л.М. Смирнова*
Технический редактор *А.К. Мухаматинова*
Компьютерная верстка *Д.С. Куманев*

Подписано в печать 27.05.2009
Формат 60x84 1/16. Усл. печ. л. 12,84 Уч.-изд. л. 13,11
Тираж 200. Заказ 146